

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

**ALIMENTATION, RÉSERVES ÉNERGÉTIQUES ET
QUALITÉ DES ŒUFS CHEZ L'OMBLE CHEVALIER
(*SALVELINUS ALPINUS*) ET LE DORÉ JAUNE (*SANDER
VITREUS*)**

Thèse présentée

dans le cadre du programme de doctorat en océanographie

en vue de l'obtention du grade de philosophiae doctor es océanographie

PAR

© SARAH GRANIER

Mai 2013

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

Composition du jury :

Émilien Pelletier, président du jury, Université du Québec à Rimouski

Céline Audet, directrice de recherche, Université du Québec à Rimouski

Sébastien Plante, codirecteur de recherche, Université de Moncton, campus de Shippagan

Grant Vandenberg, examinateur externe, Université Laval

Dépôt initial le 20 décembre 2012

Dépôt final le 28 mai 2013

À mon grand-père,

Louis Monney, agriculteur

décédé le 22 septembre 2011 pendant mon doctorat

REMERCIEMENTS

Un doctorat ne se réalise pas seul, c'est pourquoi j'aimerais tout d'abord commencer par remercier les différentes personnes qui m'ont permis de mener ce beau projet à terme. Tout d'abord, je tiens à remercier ma directrice de thèse, Céline Audet, de l'ISMER, avec qui j'ai énormément appris durant ces cinq, voire même sept dernières années. Outre sa grande rigueur scientifique et sa patience, Céline m'a toujours soutenue et encouragée, même quand moi je n'y croyais plus ! Merci également Céline de m'avoir fait partager ta passion pour les poissons et surtout pour l'aquaculture, moi qui me voyais travailler sur les mammifères marins...

Merci à Sébastien Plante (UMCS), mon co-directeur, qui malgré les kilomètres a toujours su se rendre disponible. Merci pour également pour tes nombreux bons conseils, ainsi que pour m'avoir ouvert le monde de l'alimentation dans ton laboratoire à Shippagan.

Merci aux autres membres de mon comité de thèse, Jocelyne Pellerin (ISMER) et Dany Garant (université de Sherbrooke), qui m'ont suivie et aidée au mieux de leurs connaissances. De plus, j'aimerais adresser un merci tout particulier au professeur Réjean Tremblay, qui a accepté de remplacer Jocelyne Pellerin en cours de route et qui m'a permis de réaliser les nombreuses analyses de lipides dans son laboratoire.

Merci également à Jonathan Gagnon (UQAR), qui a consacré de longues heures aux révisions de mes bases lointaines en chimie et qui m'a permis de découvrir le monde du GC-MS et des acides gras ! Merci à Grant Vandenberg (université Laval), d'avoir accepté d'être examinateur externe sur cette thèse et d'y avoir apporté des remarques pertinentes, ainsi qu'à Émilien Pelletier (ISMER) d'avoir présidé le jury d'évaluation.

Avec un tel projet basé sur différents élevages, dont certains dans le milieu aquicole, je tiens à remercier chaleureusement toutes les personnes qui ont permis la réalisation de ces élevages dans les meilleures conditions possibles. Tout d'abord merci à Nathalie Morin, responsable de la station aquicole à Pointe-au-Père, pour ses judicieux conseils, ainsi que pour la gestion des problèmes au quotidien à la station. Toujours à la

station, merci aux nombreux étudiants d'été pour leur aide toujours énormément appréciée. Merci également aux coordinatrices du RAQ, au début Dominique Lavallée, puis Renée Gagné, oui pour leur aide administrative, mais surtout pour les mains dans l'eau ! À Shippagan, j'aimerais adresser un gros merci à France Béland pour son aide précieuse et sa gestion du labo au quotidien. Merci également à Claude Pelletier et son équipe, au centre marin à Shippagan, pour l'élevage des 30 familles d'ombles chevalier. Finalement un merci tout particulier aux pisciculteurs que j'ai eu la chance de côtoyer dans le cadre de ce projet et qui m'ont permis de sortir un peu du milieu académique : les pisciculteurs de doré au Québec, André Paquette de la pisciculture André Paquette, Marco Blanchet et Karo Grenier de la pisciculture des Trois-Lacs et pour l'omble chevalier, Paul Merlin et son équipe en Nouvelle-Écosse.

Au sein de l'ISMER, je tiens à remercier vivement tous les membres de l'équipe d'administration, qui sont toujours présents avec le sourire pour résoudre nos petits problèmes. Merci à Iften pour l'apprentissage de la technique d'analyse de lipides et à Mathieu Babin pour son aide précieuse avec le GC-MS. Un chaleureux merci également à toutes les personnes du labo côtoyées durant ces cinq dernières années, qui m'ont soutenue et écoutée durant les hauts et les bas rencontrés pendant cette thèse !

Je tiens à remercier aussi mes amis ici au Québec et ceux d'ailleurs, principalement en Suisse pour les bons moments et pour m'avoir sortie, souvent le temps d'une soirée, de ma thèse ! Merci à tous ceux que j'appelle ma « famille équestre », merci de me sortir du monde universitaire pour le milieu des chevaux, au combien ressourçant !

D'un point de vue plus personnel, je tiens à remercier Erwan'n, qui m'a soutenue et encouragée au quotidien, partageant les peines, les angoisses et les succès de mon projet. Merci à mes parents et leurs conjoints respectifs pour leur soutien et leur présence constante, malgré la distance. Merci à mon petit frère, Michaël, pour ses voyages réguliers dans la belle province accompagnés de bons produits suisses ! Finalement une dernière pensée pour tous les autres membres de ma famille laissés en Suisse ou en France.

AVANT-PROPOS

Cette thèse avait pour objectif d'étudier l'utilisation des réserves énergétiques des œufs chez deux espèces d'eau douce d'intérêt commercial pour l'aquaculture au Québec, l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*) et le doré jaune (*Sander vitreus*). Un autre objectif portait sur l'étude de la première alimentation, ainsi que sur les effets de l'environnement chez des ombles chevalier en grossissement. Certaines de ces expériences ont été réalisées directement chez différents pisciculteurs.

Ce travail a été réalisé en partie dans le cadre d'une subvention stratégique conjointe du Conseil de Recherche en Sciences Naturelle et Génie du Canada (STPGP 336197) octroyée à des chercheurs de différentes provinces du Canada : Moira Fergusson (responsable), de l'université de Guelph en Ontario; Roy Danzman, de l'université de Guelph en Ontario; Brian Glebe, de la station biologique du Ministère des Pêches et Océans à St. Andrews au Nouveau Brunswick; et Sébastien Plante, de l'université de Moncton, campus de Shippagan, au Nouveau Brunswick.

Commencé à l'automne 2007, ce projet a nécessité plusieurs suivis en milieux piscicoles, ainsi que des élevages à la station aquicole de l'Institut des sciences de la mer de Rimouski, sous la responsabilité de Céline Audet, directrice de recherche de cette thèse. Ce projet a également nécessité plusieurs périodes d'analyses biologiques et biochimiques qui furent réalisées aussi bien à l'université de Moncton, campus de Shippagan sous la direction de Sébastien Plante, qu'à l'ISMER sous la direction de Céline Audet ainsi que du chercheur Réjean Tremblay, titulaire de la chaire de recherche du Canada en élevage larvaire, pour ce qui a trait aux analyses lipidiques. Réalisées dans le cadre du cours en nouveau développement de ce programme, des analyses d'acides gras ont été effectuées sous la direction du chercheur Jonathan Gagnon de l'UQAR. Les résultats obtenus lors de

cette collaboration ont pu être insérés dans deux parties de cette thèse et sont l'objet de deux articles scientifiques.

La thèse débute par une introduction générale visant à détailler l'avancée des connaissances sur les réserves énergétiques et l'alimentation chez l'omble chevalier et le doré jaune. Le cœur de la thèse est constitué de quatre articles. Le premier chapitre s'intitule : "*Lipids as egg quality indicators in captive walleye*". Le deuxième chapitre s'intitule : "*How does temperature affect the use of fatty acids in Arctic charr embryos and yolk sac fry?*". Le troisième chapitre s'intitule: "*The effect of dietary proteins and lipids on growth of young-of-the-year Arctic charr (Salvelinus alpinus)*". Le quatrième chapitre s'intitule: "*Leptin and ghrelin concentrations in Arctic charr (Salvelinus alpinus) raised in fresh or brackish water*". Une discussion générale et une conclusion générale terminent cette thèse.

RÉSUMÉ

L'aquaculture mondiale est en constante progression, avec aujourd'hui plus de 600 espèces piscicoles produites, soit presque dix fois plus qu'il y a 60 ans. Au Canada, avec seulement huit espèces produites, la volonté de développer la production de nouvelles espèces afin de diversifier l'économie et d'augmenter la ressource alimentaire mondiale est bien présente. Dans le cadre de cette thèse, deux espèces actuellement produites au Québec, mais à petite échelle, ont été ciblées, soit le doré jaune (*Sander vitreus*) et l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*). Ces deux espèces présentent non seulement un grand potentiel économique et commercial, mais également des caractéristiques aquacoles intéressantes pour l'élevage dans les conditions environnementales qui caractérisent l'est du Canada. Malgré la production existante, certains aspects limitent encore le développement de celle-ci, notamment la qualité des œufs.

Chez le doré, cette thèse avait comme objectifs d'étudier si plusieurs générations de domestication pourraient modifier ou améliorer les contenus en lipides et acides gras présents dans les œufs. Pour l'omble chevalier, un premier objectif était de tester comment la température affecte l'utilisation des acides gras chez les embryons et les alevins. Un second objectif consistait en la vérification de l'effet des contenus en protéines et en lipides de la moulée sur la croissance et l'accumulation de réserves énergétiques chez des 0⁺. Finalement, chez des individus en grossissement, les objectifs étaient de vérifier tout d'abord si un élevage en eau saumâtre pourrait augmenter la croissance des individus, puis de corrélérer celle-ci avec les concentrations circulantes des hormones leptine et ghréline. Les dorés étudiés provenaient de deux piscicultures québécoises, alors que les ombles chevalier étaient tous issus de la souche Fraser.

Dans le premier chapitre, nous avons observé que malgré des tailles d'œufs différentes, selon l'alimentation et l'environnement d'où provenaient les géniteurs, les contenus en lipides totaux, ainsi que les classes lipidiques semblaient être bien conservés. À l'inverse, les concentrations des acides α -linoléique, arachidonique (AA) et docosahexaénoïque (DHA) étaient moindres dans les œufs de femelles élevées en pisciculture par rapport aux œufs provenant de femelles sauvages. Ces concentrations plus élevées pourraient ainsi mettre en évidence l'importance de ces acides gras pour la survie de l'embryon, le taux de survie le plus élevé observé étant celui des œufs des femelles sauvage.

Dans le deuxième chapitre, nous avons suivi le développement de familles de types « demi-frère » élevées à température naturelle et à température constante à 6°C. Nous avons démontré que les conditions thermiques n'avaient pas d'effet sur la survie, ni sur l'utilisation des acides gras pendant le développement embryonnaire, cependant les œufs incubés à température naturelle possédaient un contenu en lipides totaux plus élevé et les alevins étaient plus longs que ceux incubés à température constante. De plus, nous avons

observé que les alevins avec un taux d'éclosion élevé utilisaient préférentiellement les acides gras mono-insaturés plutôt que les poly-insaturés.

Dans le troisième chapitre, nous avons suivi la croissance d'alevins nourris pendant trois mois avec des moulées artisanales ayant des contenus en protéines (47 à 63 %) et en lipides (13 à 24 %) différents. Les résultats obtenus démontrent qu'une moulée riche en protéines induit une meilleure croissance, alors que les lipides alimentaires n'affectent pas la croissance sans égard au surplus énergétique qu'elles contiennent.

Dans le quatrième chapitre, nous avons réalisé, en entreprise, le suivi de poissons d'âge 1+ élevés en eaux douce ou saumâtre pendant un an. Après un an, l'élevage en continu en eau saumâtre n'a pas été bénéfique pour la croissance, les poissons présentant une croissance plus faible que ceux élevés en eau douce. Les hormones leptine et ghréline présentaient des moyennes saisonnières différentes, mais variaient également en fonction du milieu d'élevage, révélant un effet orexigène pour la ghréline et anorexigène pour la leptine.

Au cours de cette thèse, nous avons mis en évidence certaines caractéristiques propres à chaque espèce. Ainsi, chez les œufs du doré jaune, les lipides de réserve contiennent surtout des triacylglycérides et des cires estérifiées, alors que chez l'omble chevalier, ce sont principalement des triacylglycérides. De plus, alors que chez le doré les PUFAs joueraient un rôle majeur sur la survie, cela ne semble pas être le cas chez l'omble chevalier. Nous avons également démontré qu'afin d'assurer une croissance optimale à des alevins d'omble chevalier en début d'alimentation exogène, une moulée riche en protéines (plus de 60 %) est nécessaire et que le niveau de lipides doit rester sous un certain seuil (moins de 20 %). Finalement, l'effet de l'environnement semble bien présent aux différents stades de vie de l'omble chevalier. En effet, une température d'incubation constante et élevée produit des alevins de plus petite taille, effet possiblement lié à une augmentation du métabolisme. De plus, chez des individus en grossissement, les conditions de salinité influencent différemment la leptine et la ghréline, deux hormones régulatrices de l'appétit.

Mots clés : Omble chevalier, doré jaune, qualité des œufs, acides gras, croissance, alimentation, leptine, ghréline

ABSTRACT

World aquaculture is in continual progression and more than 600 fish species are in production, which is ten times more than 60 years ago. In Canada, only eight fish species are commercialized, and there are opportunities to develop the production of new species. This thesis focusses on two species that are actually produced on a small scale basis: the walleye (*Sander vitreus*) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Both species have high economic and commercial potential and have traits of interest for rearing in environmental conditions typical of eastern Canada. However, some aspects are still limiting this development, especially egg quality.

This thesis aimed to study whether several generations of domestication could modify or improve egg lipids and fatty acid content in walleye and how temperature affects the use of fatty acids in Arctic charr embryos and yolk-sac fry. The effect of feed quality and water salinity on juvenile growth were also assessed. Walleye used for this study came from two Quebec fish farms, while Arctic charr were all from the Fraser strain.

In the first chapter, we aimed to verify how breeder diet could modify or improve egg quality. Despite different egg sizes, according to feeding and rearing environment, total lipids in the eggs and lipid class contents seemed to be well conserved. On the other hand, α -linolenic, arachidonic, and docosahexaenoic fatty acids were in smaller concentration in eggs from farmed females. As higher survival rate was observed for eggs from wild females, this could indicate relevance of these fatty acids for embryonic development.

In the second chapter, we aimed to highlight how temperature conditions affected the use of fatty acids during the first development stages in Arctic charr. We followed the development of half-sib families reared under natural temperature conditions or constant at 6°C. We demonstrated that temperature conditions had no effect on the use of fatty acids by embryos and on survival. However, eggs incubated under natural temperature conditions had higher total lipid content and produced significantly longer fry than those incubated at constant temperature. Moreover we observed that fry having a high hatching rate had a higher consumption of structural mono-unsaturated fatty acid than those having low hatching rate.

In the third chapter, we aimed to determine how the dietary protein – lipid ratio affects growth and energy storage in young-of-the-year Arctic charr, using handmade feeds with different protein (47 to 63%) and lipid (13 to 24%) contents. We followed growth of fry fed three months with the different feeds. Results showed that protein rich diets induced a better growth than the ones with low protein contents, while dietary lipids did not affect growth, the energy excess being not converted into growth.

In the fourth chapter, we aimed to verify if rearing Arctic charr in brackish conditions would increase their growth and condition factor, and to correlate these changes

with circulating leptin and ghrelin hormones. Therefore we followed 1+ fish reared in fresh or brackish water for one year directly at the fish farm. After one year, fish reared in brackish water had lower growth than those reared in freshwater. Plasma leptin and ghrelin concentrations showed some fluctuations during the year and according to the environment, suggesting orexigenic and anorexigenic effects of ghrelin and leptin respectively.

During this thesis, we showed some characteristics specific to each of these two species. In walleye eggs, lipid reserves contained mostly triacylglycerols and wax ester, while in Arctic charr, triacylglycerols were the main egg component. Moreover, in walleye, PUFAs were important for survival, while it did not seem to be the same in Arctic charr. We also demonstrated that a protein-rich (more than 60%) diet is required to promote optimal growth in Arctic charr fry and that lipid should not exceed 20%. Finally, environmental effects were affecting Arctic charr at different life stages. Indeed a fixed and high incubation temperature produced smaller fry than natural temperature conditions, possibly due to an increase metabolic cost. Moreover in on-growing fish, rearing conditions affected leptin and ghrelin hormones, two endocrine factors regulating appetite, with an orexigenic effect of ghrelin in fish reared in freshwater and an anorexigenic effect of leptin in those reared in brackish water.

Keywords : Arctic charr, walleye, egg quality, fatty acids, growth, feeding, leptin, ghrelin

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	ix
AVANT-PROPOS.....	xi
RÉSUMÉ.....	xiii
ABSTRACT	xv
LISTE DES TABLEAUX.....	xxi
LISTE DES FIGURES	xxv
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
L'AQUACULTURE	1
Situation actuelle	1
Développement de nouvelles espèces	2
Le doré.....	4
L'omble chevalier	7
DE L'ŒUF AU POISSON EN GROSSISSEMENT	10
L'œuf.....	10
Les réserves énergétiques des œufs.....	12
La croissance	18
Alimentation et appétit	18
L'environnement	25
OBJECTIF GÉNÉRAL DU PROJET	29
CHAPITRE 1.....	31
RÉSUMÉ.....	31

ABSTRACT	33
INTRODUCTION	34
MATERIAL AND METHODS.....	35
RESULTS.....	38
DISCUSSION.....	45
CHAPITRE 2	49
RÉSUMÉ.....	49
ABSTRACT	51
INTRODUCTION	52
MATERIALS AND METHODS	53
RESULTS.....	58
DISCUSSION.....	69
CHAPITRE 3	75
RÉSUMÉ.....	75
ABSTRACT	77
INTRODUCTION	78
MATERIALS AND METHODS	79
RESULTS.....	84
DISCUSSION.....	89
CHAPITRE 4	95
RÉSUMÉ.....	95
ABSTRACT	97
INTRODUCTION	98
MATERIALS AND METHODS	100
RESULTS.....	103
DISCUSSION.....	109
DISCUSSION GÉNÉRALE.....	113
CONTRIBUTIONS DE L'ÉTUDE.....	114
POINT DE VUE AQUACOLE.....	121

CONCLUSION GÉNÉRALE	123
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	125

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE 1

LES LIPIDES EN TANT QU'INDICATEURS DE LA QUALITÉ DES ŒUFS CHEZ DORÉS JAUNE D'ÉLEVAGE

Tableau 1. Broodstock origin (wild, F0, as F0-PTL and F0-PAP, F1, and F2), year of capture or breeding, and food source during rearing.....	36
Tableau 2. Mass, fork length, and condition factor (K) of wild, F0 (F0-PTL and F0-PAP), F1, and F2 females breeders used and survival rate at hatch for each group.....	39
Tableau 3. Total lipid content (mg g ⁻¹ dry mass) and lipid class composition (percentage of total lipids) (means \pm sd) of walleye eggs from wild, F0 (F0-PTL and F0-PAP), F1 and F2 females.....	41
Tableau 4. Fatty acid composition (percentage of total fatty acid \pm sd) in neutral lipids of walleye eggs from wild, F0 (F0-PTL and F0-PAP), F1, and F2 females.....	43
Tableau 5. Fatty acid composition (percentage of total fatty acid \pm sd) in polar lipids of walleye eggs from wild, reared (F0-PTL and F0-PAP) and domesticated (F2-PAP and F3-PAP) females.	44

CHAPITRE 2

**COMMENT LA TEMPÉRATURE AFFECTE-T-ELLE L'UTILISATION DES
ACIDES GRAS CHEZ LES EMBRYONS ET LES ALEVINS VÉSICULÉS
D'OMBLES CHEVALIER**

Tableau 6. Weight, length, condition factor (K), and gonadosomatic index (GSI) of females used for each cross-type, and weight, and number of eggs of each spawning.	54
Tableau 7. Survival rate at 100 degree-days (dd), at the eyed stage, at hatch, and at the yolk-sac resorption stage under natural (Nat T°) and constant (Const T°) temperatures for eggs that did not hatch (NH), that showed low hatching success (< 50%; LH), and that showed high hatching success (> 50%; HH).	57
Tableau 8. Lipid classes (means \pm sd) of Arctic charr eggs that did not reach yolk sac resorption stage (NH), that showed low hatching success (< 50%; LH), and that showed high hatching success (> 50%; HH).	60
Tableau 9. Selected fatty acid contents (percentage of total fatty acid \pm sd) in neutral lipids of Arctic charr eggs that did not reach yolk-sac resorption stage (NH), that showed low hatching success (< 50%; LH), and that showed high hatching success (> 50%; HH).	61
Tableau 10. Selected fatty acid contents (percentage of total fatty acid \pm sd) in polar lipids of Arctic charr eggs that did not reach yolk-sac resorption stage (NH), that showed low hatching success (< 50%; LH), and that showed high hatching success (> 50%; HH).	62
Tableau 11. Lipid classes (means \pm sd) of Arctic charr fry at hatch and at yolk-sac resorption, reared under natural or constant (Const T°) temperatures.	66

Tableau 12. Selected fatty acid content (% of total fatty acid \pm sd) of neutral lipids at hatch and at yolk-sac resorption stage Arctic charr fry that showed low (< 50%; LH) and high (> 50%; HH) hatching success.	67
---	----

Tableau 13. Selected fatty acid content (percentage of total fatty acid \pm sd) of polar lipids at hatch and at yolk-sac resorption stage Arctic charr fry that showed low (< 50%; LH) and high (> 50%; HH) hatching success.	68
--	----

CHAPITRE 3

LES EFFETS DES PROTÉINES ET LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LA CROISSANCE D'OMBLES CHEVALIER (*SALVELINUS ALPINUS*) DE L'ANNÉE

Tableau 14. The formulation used to create the four experimental diets (LPLL: low protein – low lipid; LPHL: low protein – high lipid; HPHL: high protein – high lipid; HPLL: high protein – low lipid) and their compositions.	82
--	----

Tableau 15. Amino acid and essential fatty acid compositions of the four experimental diets (LPLL: low protein – low lipid; LPHL: low protein – high lipid; HPHL: high protein – high lipid; HPLL: high protein – low lipid) and the nutrient requirements of juvenile Arctic charr.	83
---	----

Tableau 16. ANOVA results for protein, lipid, and protein \times lipid effects for individual length and weight, condition factor, hepatosomatic index, and energy content.	85
--	----

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION

Figure 1.	Évolution des stocks ichthyologiques marins mondiaux, en pourcentage, depuis 1974.	2
Figure 2.	Répartition des ventes de produits aquacoles au Québec.....	3
Figure 3.	Doré jaune (<i>Sander vitreus</i>).	4
Figure 4.	Distribution du doré jaune en Amérique du Nord.....	5
Figure 5.	Différentes morphes d'omble chevalier : en eau salée (haut), femelle mature (milieu) et mâle mature (bas).	7
Figure 6.	Distribution de l'omble chevalier dans son milieu naturel. Les divisions T, E, A et O représentent les différentes sous-populations.	8
Figure 7.	Voies de biosynthèse des acides gras par l'élongation et la désaturation des chaînes aliphatiques chez les poissons.....	17
Figure 8.	Changements saisonniers des taux de croissance et facteurs de condition chez les ombles chevalier immatures.	19
Figure 9.	Régulation de l'alimentation et du métabolisme énergétique chez les poissons.	23

CHAPITRE 1

LES LIPIDES EN TANT QU'INDICATEURS DE LA QUALITÉ DES ŒUFS CHEZ DORÉS JAUNE D'ÉLEVAGE

Figure 10. Egg diameter from wild, F0 (F0-PTL and F0-PAP), F1, and F2 walleye females. Data are presented as means \pm sd. 40

CHAPITRE 2

COMMENT LA TEMPÉRATURE AFFECTE-T-ELLE L'UTILISATION DES ACIDES GRAS CHEZ LES EMBRYONS ET LES ALEVINS VÉSICULÉS D'OMBLES CHEVALIER

Figure 11. Egg diameter at spawning of Arctic charr eggs that did not reach the yolk-sac resorption stage (NH), that showed low hatching success ($< 50\%$; LH), and that showed high hatching success ($> 50\%$; HH). 59

Figure 12. Weight (means \pm sd) of fry reared under natural or constant temperature until hatch for groups that showed low (LH) and high (HH) hatching success. 64

Figure 13. Length (A) and condition factor (B) for fry reared under natural or constant temperature until hatch. 65

CHAPITRE 3

LES EFFETS DES PROTÉINES ET LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LA CROISSANCE D'OMBLES CHEVALIER (*SALVELINUS ALPINUS*) DE L'ANNÉE

Figure 14.	Fork length (A) and individual weight (B) of Arctic charr fed different diets for three months (1, 2, 3).	86
Figure 15.	Condition factor (A) and hepatosomatic index (B) of Arctic charr fed different diets for three months (1, 2, 3).	87
Figure 16.	Energy content of Arctic charr fed different diets for three months (1, 2, 3).....	88

CHAPITRE 4

CONCENTRATIONS DES HORMONES LEPTINE ET GRÉLINE CHEZ DES OMBLES CHEVALIER (*SALVELINUS ALPINUS*) ÉLEVÉS EN EAUX DOUCE OU SAUMÂTRE

Figure 17.	Water temperature in rearing tanks from May 2008 to May 2009.....	101
Figure 18.	Weight (A), length (B), and condition factor (C) of 17-month-old (1+) Arctic charr (<i>Salvelinus alpinus</i>) reared for a year in fresh or brackish water.	104
Figure 19.	Haematocrit (A) and osmolality (B) of 17-month-old (1+) Arctic charr (<i>Salvelinus alpinus</i>) reared for a year in fresh or brackish water.....	106
Figure 20.	Plasma leptin (A) and ghrelin (B) of 17-month-old (1+) Arctic charr (<i>Salvelinus alpinus</i>) reared for a year in fresh or brackish water.....	107
Figure 21.	Correlations between the plasma leptin and weight (A), length (B), and condition factor (C), and between the plasma ghrelin and weight (D), length (E), and condition factor (F) in fresh and brackish water in Arctic charr (<i>Salvelinus alpinus</i>).....	108

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'AQUACULTURE

Situation actuelle

Avec une population mondiale en constante augmentation, le problème de ressources alimentaires suffisantes pour l'ensemble de l'humanité se pose. L'apport en protéines d'origine aquacole devient donc une ressource importante à considérer. Ainsi, en 2009, les ressources piscicoles représentaient 16,6 % de toutes les protéines animales consommées dans le monde (FAO, 2012). Jusque dans les années 80, l'industrie de la pêche couvrait à plus de 90 % les besoins piscicoles de la population mondiale, mais depuis une vingtaine d'années, l'importance de l'aquaculture va grandissante, allant jusqu'à représenter plus de 40 % en 2011. Cette tendance n'ira pas en diminuant si l'on considère l'état des stocks de poissons avec une production mondiale des pêches de capture stable à 90 millions de tonnes depuis plus de 10 ans, une diminution continue de la proportion des stocks non exploités pleinement et une augmentation de ceux surexploités (Figure 1).

En 2010, la production aquacole mondiale représentait 79 millions de tonnes, toutes ressources confondues (poissons, mollusques, crustacés, amphibiens, invertébrés et plantes) (FAO, 2012). Cependant, il existe un grand déséquilibre dans la distribution de cette production. Ainsi, près de 90 % du volume de production provient de l'Asie alors que seulement 4,3 % provient des Amériques. De son côté, le Canada n'arrive qu'au 23^{ème} rang mondial de la production aquacole (production sur sol canadien), avec à peine 0,3 % de cette production. Le nombre d'espèces de poissons en production est passé de 72 espèces

dans les années 50, à près de 600 soixante ans plus tard! Au Canada, les espèces aquacoles sont au nombre de 25 (12 espèces d'algues, 5 espèces de mollusques et crustacés et 8 espèces de poissons marins et dulçaquicoles) (MPO, 2012). Les deux espèces piscicoles les plus importantes en termes de volume de production sont le saumon atlantique (*Salmo salar*) et la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*).

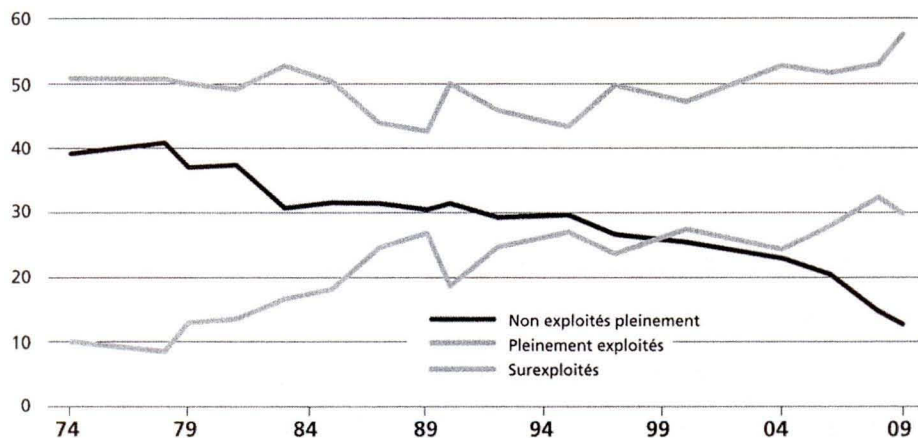


Figure 1. Évolution des stocks ichthyologiques marins mondiaux, en pourcentage, depuis 1974. Tiré de FAO, 2012.

Développement de nouvelles espèces

Au Canada, les retombées liées à la production aquacole représentent un tiers de la valeur totale des produits aquatiques (MPO, 2012) et le saumon y est la principale espèce produite. Considérant uniquement la production piscicole, le saumon atlantique compte pour 85 % de celle-ci, bien que cette espèce soit sensible aux basses températures (Page & Robinson, 1992), ainsi qu'à diverses épizooties (Fryer & Hedrick, 2003; Saksida et al., 2011). Depuis plusieurs décennies, la volonté de développer la production de nouvelles espèces est présente au Canada afin de diversifier l'économie et d'augmenter la ressource alimentaire mondiale. Les espèces potentielles doivent présenter certaines caractéristiques

telles une bonne croissance sous les conditions locales ou une résistance aux maladies (revu par Jobling, 2010). Plusieurs espèces sont actuellement à l'essai, telles que le loup de mer (*Anarhichas lupus*) et le bar d'Amérique (*Morone saxatilis*). Au Québec, la production piscicole est uniquement dulcicole et vise trois marchés : la table, l'ensemencement et les étangs de pêche. Depuis un peu moins d'une dizaine d'années, les ventes liées à l'ensemencement représentent les trois quarts de la production, avec l'omble de fontaine (*Salvelinus fontinalis*) comme principale espèce produite, suivi par le marché de la table avec la production de la truite arc-en-ciel (Figure 2).

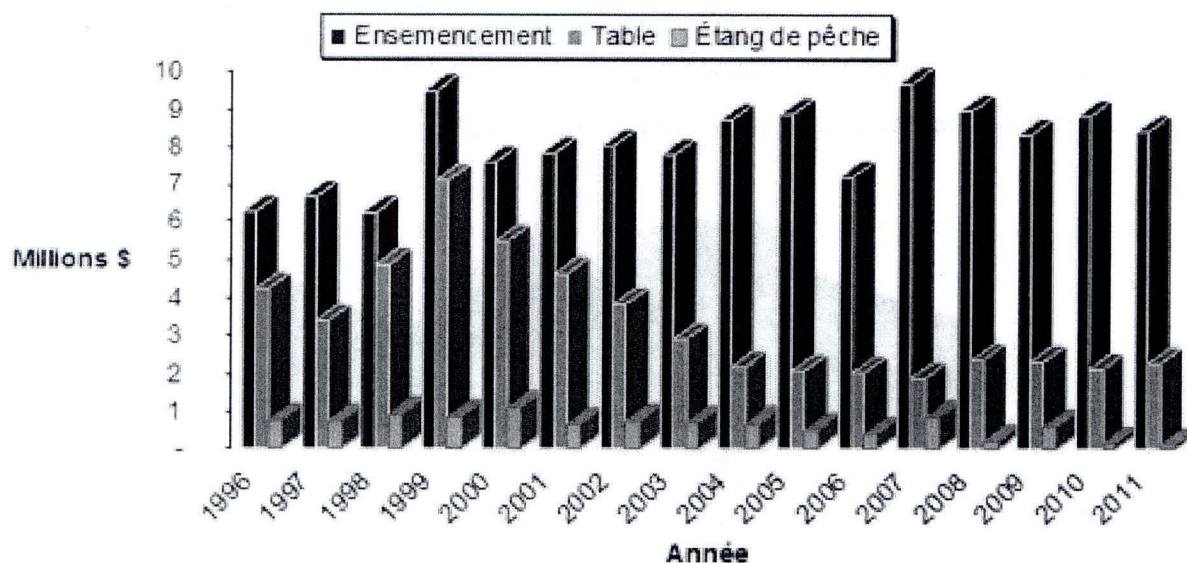


Figure 2. Répartition des ventes de produits aquacoles au Québec. Tiré de MAPAQ, 2012.

Dans le cadre de cette thèse, deux espèces actuellement produites au Québec, mais à petite échelle, ont été choisies, soit le doré jaune (*Sander vitreus*) et l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*). Le doré jaune est une espèce présentant une très grande valeur économique pour les pêches sportive et commerciale et sa production actuelle est principalement utilisée pour l'ensemencement. L'omble chevalier n'est plus réellement considérée comme une espèce en développement, cependant sa production reste encore

faible (MPO, 2012) du à différents problèmes lors de l'élevage, tels qu'une croissance variable, la présence de maturité précoce ou la variabilité de la qualité des œufs (Jobling et al., 1998). Cette espèce présente néanmoins certaines caractéristiques recherchées en production, tel qu'un élevage à haute densité, ainsi que la présence d'une forte demande des consommateurs pour le marché de la table.

Le doré

Généralités

Avec ses deux gros yeux caractéristiques et ses deux nageoires dorsales distinctes (Figure 3), le doré jaune fait partie de la famille des Percidés (Bernatchez & Giroux, 2000).

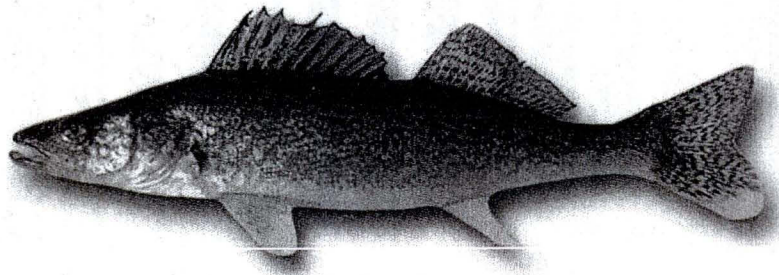


Figure 3. Doré jaune (*Sander vitreus*). Tiré de Bernatchez & Giroux (2000).

Ce grand carnivore pouvant atteindre jusqu'à 70 cm (Scott & Crossman, 1974) est largement répandu dans les rivières et lacs de toute l'Amérique du Nord, entre les latitudes 32° et 68° nord (Bradford et al., 2008; Hartman, 2009). Au Canada, on le retrouve du Québec jusqu'au nord-est de la Colombie Britannique (Figure 4) dans des eaux relativement fraîches, peu profondes et turbides (Bernatchez & Giroux, 2000).

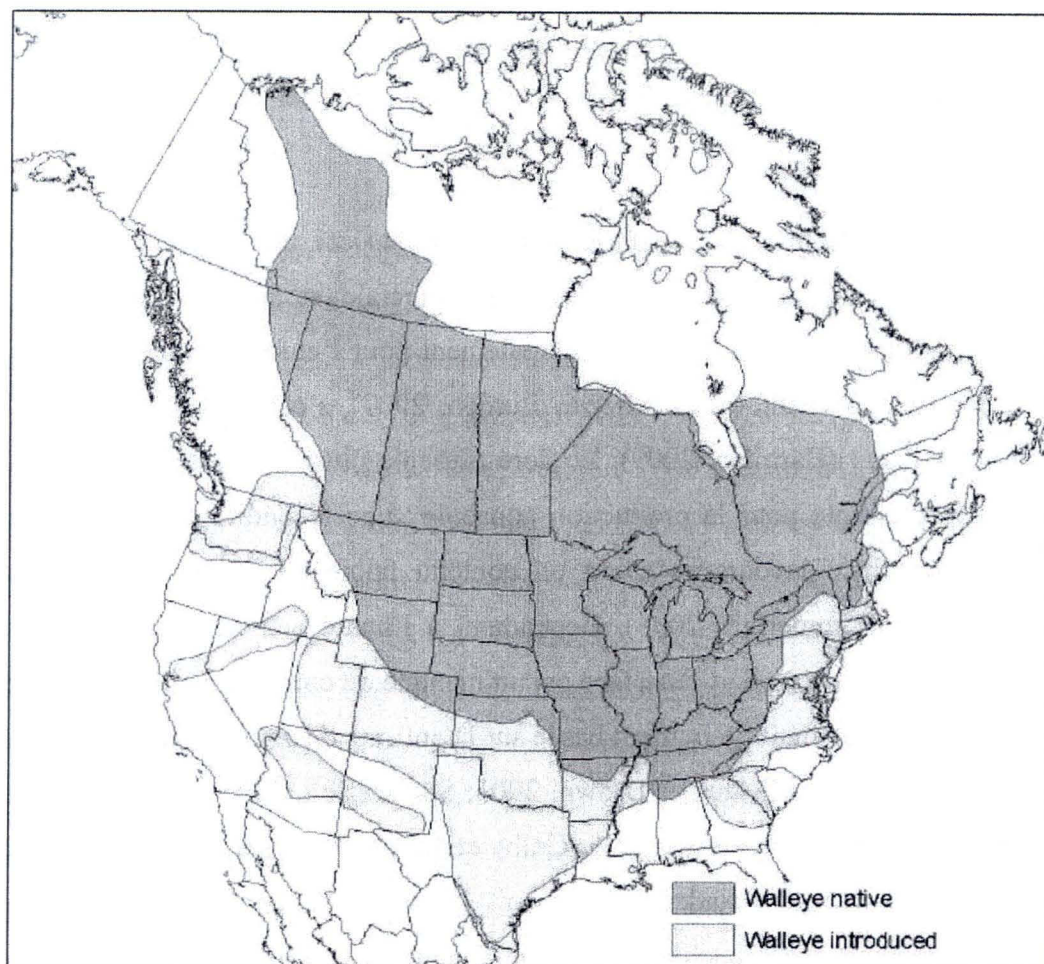


Figure 4. Distribution du doré jaune en Amérique du Nord. Tiré de Bradford et al. (2008).

La reproduction a lieu au printemps à la débâcle et pour que la maturation des œufs se fasse correctement, des températures en dessous de 10 °C semblent être nécessaires (McMahon et al., 1984). La première maturation chez les femelles a lieu entre 3 et 6 ans, alors qu'elle survient un peu plus tôt chez les mâles, soit entre 2 et 4 ans (Scott & Crossman, 1974). Les femelles itéropares pondent entre 40 000 et 600 000 œufs de 1,37 à 2,12 mm de diamètre (Colby et al., 1979), qui éclosent au bout de 240 °jour (°d) d'incubation. À l'éclosion, les larves mesurent un peu plus de 6 mm et vont se nourrir pendant une dizaine de jours (100 °d) sur leurs réserves vitellines avant de devenir

pélagiques (Scott & Crossman, 1974) et de s'alimenter de zooplancton, d'invertébrés, puis de poissons à l'atteinte d'une taille de 30 mm (Colby et al., 1979).

La production actuelle

Comme mentionné précédemment, le doré est une espèce très importante aussi bien aux États-Unis qu'au Canada pour la pêche commerciale et sportive. La production annuelle en Amérique du Nord, utilisée principalement pour l'ensemencement des étangs, des lacs et des rivières (Fenton et al., 1996; Burden, 2007), s'élève à plus d'un milliard d'alevins et d'estivaux (Hartman, 2009). Le doré présente plusieurs caractéristiques types d'une espèce intéressante pour la production aquacole : une fécondité élevée, une bonne croissance et une chair savoureuse ayant un contenu faible en lipides, mais élevé en protéines (revu par Summerfelt, 2005). Cependant, à l'heure actuelle, un des obstacles majeurs auquel la production doit faire face est un manque de contrôle de la domestication. La production est encore majoritairement basée sur la collecte de gamètes mâles et femelles issus de géniteurs sauvages (Mauk & Brown, 2001; Summerfelt, 2005). De plus, la survie de la progéniture reste encore très variable (Colby et al., 1979), dus à différents problèmes rencontrés dans les premiers stades de vie, soit l'absence de gonflement de la vessie natatoire, le colmatage des branchies, la non-alimentation et le cannibalisme (Hartman, 2009).

En Europe, une espèce voisine du doré, le sandre (*Sander lucioperca*), présente des caractéristiques similaires pour la diversification et différentes recherches ont été réalisées pour améliorer sa production. La synchronisation des périodes de reproduction semble être le problème clé (Pourhosein Saramah et al., 2012; Zarski et al., 2012), tout comme l'optimisation de l'alimentation des juvéniles sur de la nourriture sèche (Hamza et al., 2012). Une étude sur de jeunes larves (10 à 34 jours après l'éclosion) a démontré qu'une nourriture riche en phospholipides (90 g/kg), aussi bien d'origine végétale (lécithine de soja) qu'animale (gonades de poissons marin), pourrait être bénéfique pour la croissance et la diminution des anomalies de la mâchoire chez cette espèce (Hamza et al., 2012).

L'omble chevalier

Généralités

L'omble chevalier a la forme caractéristique commune à tous les salmonidés. On le différencie des autres salmonidés par ses taches pâles sur fond plus sombre et par une coloration uniforme du dos et des nageoires (Bernatchez & Giroux, 2000) (Figure 5).

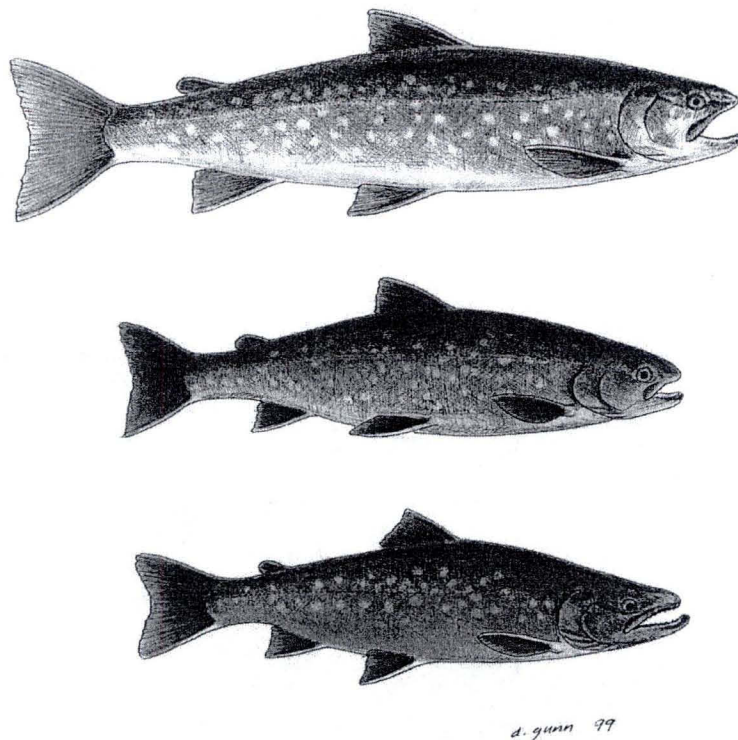


Figure 5. Différentes morphes d'omble chevalier : en eau salée (haut), femelle mature (milieu) et mâle mature (bas). Tiré de Johnston (2002).

Poisson carnivore allant même jusqu'à manger des individus de sa propre espèce, il peut mesurer jusqu'à 50 cm (Scott & Crossman, 1974). Grâce à son excellente résistance aux températures froides, l'omble chevalier possède la répartition la plus septentrionale de toutes les espèces d'eau douce (Scott & Crossman, 1974). On le retrouve sur les côtes du

nord de l'Amérique, de l'Europe et de l'Asie, ainsi qu'en Nouvelle Zemble, en Islande et au Groenland (Scott & Scott, 1988). L'espèce est divisée en quatre sous-espèces qu'on retrouve dans des régions différentes : *Salvelinus alpinus alpinus* au nord de l'Europe, *S. a. erythrinus* aux limites de l'Arctique, *S. a. oquassa* dans les provinces Atlantique du Canada (sud du Québec, Nouveau-Brunswick, Îles du Prince Edward, Terre-Neuve) et *S. a. taranetzi* dans les régions donnant sur le Pacifique Nord (Alaska, péninsule nord-est asiatique) (Johnston, 2002) (Figure 6). Les différentes populations au sein d'une même sous-espèce vont être soit anadromes, c'est-à-dire que les individus vont entreprendre une migration en eau de mer durant l'été puis revenir en eau douce, soit résidentes dans les eaux froides de certains lacs (Bernatchez & Giroux, 2000).

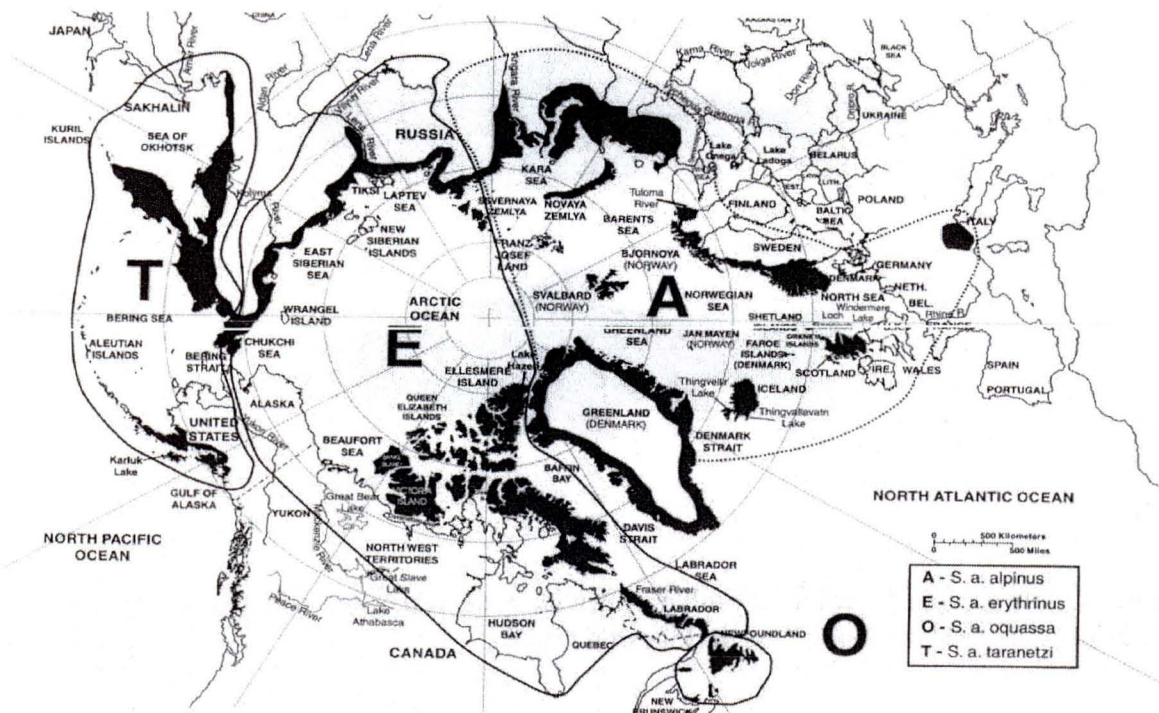


Figure 6. Distribution de l'omble chevalier dans son milieu naturel. Les divisions T, E, A et O représentent les différentes sous-populations. Tiré de Johnston (2002).

Dans son milieu naturel, l'omble chevalier fraie de septembre à décembre, selon que la population soit anadrome ou résidente; les individus anadromes frayant plus tôt dans la saison que les résidents (Bernatchez & Giroux, 2000). Une femelle anadrome peut pondre de 3 000 à 5 000 œufs de 4 à 5 mm de diamètre, alors qu'une femelle résidente ne pond qu'entre 500 à 1 500 œufs de plus grosse taille (Scott & Crossman, 1974), qui éclore environ 500 j plus tard. À l'éclosion, les alevins mesurent moins de 2 cm et pendant plusieurs semaines, ils vont s'alimenter exclusivement sur leurs réserves vitellines.

La production actuelle

L'omble chevalier étant une espèce d'eau froide, il présente un intérêt pour une production sous les conditions environnementales canadiennes. Il possède plusieurs caractéristiques intéressantes pour l'élevage : une bonne croissance à faible température ($< 5^{\circ}\text{C}$) et à forte densité, ainsi qu'une bonne valeur commerciale (Reynolds, 1994; Delabbio, 1995). La production d'omble chevalier est présente dans plusieurs pays dont l'Islande et la Suède et sa production mondiale annuelle s'élève à près de 3 000 tonnes (FAO, 2010). Au Canada, les premières tentatives d'élevage remontent au 19^{ème} siècle (McCrimmon, 1984), alors que la commercialisation n'a réellement commencé que dans les années 1980 (Delabbio, 1995). Cela fait aujourd'hui plus de 40 ans que l'omble chevalier est étudié pour son potentiel aquacole au Canada (MPO, 2012), mais comme mentionné précédemment, de nombreux facteurs tels qu'une croissance variable, la présence de maturité précoce ou la variabilité de la qualité des œufs (Jobling et al., 1998), ont grandement ralenti son développement. Actuellement, trois souches anadromes de la sous-espèce *Salvelinus alpinus erythrinus* sont utilisées pour l'élevage au Canada : la souche Fraser (provenant de la rivière Fraser au Labrador), la souche Nauyuk (provenant de la Nauyuk dans les Territoires du Nord-Ouest) et la souche Tree River (provenant du Système Tree River dans les Territoires du Nord-Ouest) (Delabbio, 1995; Johnston, 2002). Bien qu'elles soient anadromes, en élevage, elles sont exclusivement élevées en eau douce, alors qu'un élevage partiel en eau salée ou saumâtre (imitant leurs migrations naturelles) pourrait probablement être bénéfique en terme de croissance (Bjerknes et al., 1992, Boeuf & Payan,

2001). De plus, comme vu précédemment, l'amélioration de la qualité des œufs, ainsi qu'un meilleur succès à l'éclosion paraissent être des points à améliorer chez cette espèce.

Depuis les années 1970, plusieurs chercheurs islandais et norvégiens se sont intéressés à la production de cette espèce au niveau commercial (voir Johnston, 2002). Afin de minimiser les coûts associés à la production, les mêmes installations que celles utilisées pour l'élevage du saumon atlantique, soit des cages en mer, ont été utilisées (revu par Jobling et al., 1993). Cependant depuis ce temps, des études ont démontré que même chez des populations anadromes, la tolérance à l'élevage en eau de mer (directement reliée aux capacités osmo-régulatrices) est variable durant l'année. Ainsi, deux études ont démontré que l'adaptation et l'élevage entre 32 et 35 ppt durant l'automne et l'hiver ne semblent pas optimales et peuvent causer la mort (Gjedrem, 1975; Finstad et al., 1989), probablement lié à l'écologie même de l'espèce, qui ne fréquente pas naturellement de telles salinités durant ces périodes de l'année; alors qu'Arnesen et al. (1993a) ont montré qu'un transfert au printemps (avril) à 35 ppt donnait les mêmes résultats de croissance que pour des individus maintenus en eau douce. Toutefois, dans ces régions, le problème de la qualité des œufs est également toujours présent avec un taux de survie des œufs variant de 30 à 70 % (revu par Eriksson et al., 2010).

DE L'ŒUF AU POISSON EN GROSSISSEMENT

L'œuf

Dans le règne animal, le terme œuf est employé dès qu'il y a eu fécondation entre des gamètes mâle et femelle, formant ainsi une cellule diploïde, qui suite à de nombreuses divisions cellulaires deviendra un embryon (Le Menn et al., 2007). Les poissons faisant partie des organismes n'allouant que peu, voire aucun soins parentaux à leur progéniture, l'œuf doit contenir tout le matériel nécessaire à la survie et au bon développement de l'embryon aussi bien avant qu'après l'éclosion (Hilton et al., 2008). Par matériel

nécessaire, on entend d'une part tout le bagage génétique transmis par les deux gamètes, mais également la contribution, uniquement maternelle, liée à la qualité de l'ovocyte (Kjørsvik et al., 1990). De la qualité de cet ovocyte dépend la survie en milieu naturel, mais également la réussite d'une production commerciale (Brooks et al., 1997).

La composition de l'œuf et donc sa qualité, dépendant uniquement de la mère (revu par Wiegand, 1996; Kamler, 2005), il a été démontré que différents attributs de celle-ci peuvent influencer la qualité des œufs qu'elle produit. L'âge de la femelle est à considérer, car il a été démontré chez plusieurs espèces, dont le doré, l'omble de fontaine ou la truite arc-en-ciel, que de jeunes femelles produisent de plus petits œufs que des femelles plus âgées (Johnston, 1997; Dlaboga et al., 1998; Bartel et al., 2005). Deuxièmement, la taille de la femelle peut être importante, mais toutes les études ne s'accordent pas sur la présence d'une réelle relation entre la taille de la femelle et la taille des œufs, les résultats différant parfois même au sein d'une même espèce (revu par Kamler, 2005). Finalement, l'alimentation, la condition physiologique ainsi que le statut hormonal de la femelle lors de la synthèse de l'œuf sont autant de facteurs importants dans l'obtention d'un œuf de bonne qualité (Brooks et al., 1997; Kamler, 2005). Le milieu dans lequel sont maintenus les géniteurs joue également un rôle important. Par exemple, chez la truite arc-en-ciel, une température élevée (au-dessus de 12 °C) va provoquer un retard de la maturation sexuelle (Pankhurst & Thomas, 1998). Chez un autre salmonidé, l'omble de fontaine, l'élevage en eau de mer (27-30 ppt) pendant l'été semble également influencer la qualité des œufs comparativement à des œufs issus de géniteurs gardés en eau douce (Roche-Mayzaud et al., 1998). Finalement, Atse et al. (2002) ont démontré chez la même souche d'omble chevalier que celle utilisée dans cette thèse, que des géniteurs élevés sous des conditions naturelles de température et en eau de mer (25-30 ppt) pendant l'été, avant la reproduction, produisent des œufs ayant un contenu plus élevé en lipides et en protéines et que les embryons ont un meilleur taux de survie que des œufs provenant de géniteurs élevés en eau douce.

Du point de vue aquacole, des œufs vont être dits de « bonne qualité » s'ils présentent de faibles taux de mortalité à des stades bien précis du développement : à la fécondation, au stade oillé, à l'éclosion et une fois les réserves vitellines épuisées, soit lorsque

l'alimentation exogène est l'unique support alimentaire (Bromage et al., 1992; Brooks et al., 1997; Kamler, 2005; Bobe & Labbé, 2010). En production, l'effet de la domestication sur la qualité des œufs des poissons est variable et le nombre de générations est à prendre en considération. En effet, une étude récente sur le « tabarana » (*Salminus hilarii*) a démontré que des œufs issus de géniteurs de première génération de domestication ne présentaient que peu de différences avec des œufs issus de géniteurs sauvages, les seuls changements étant au niveau de la consommation et du stockage des acides gras, pendant le développement embryonnaire et larvaire (Araújo et al., 2012). En effet, les œufs issus de femelles domestiques contenaient plus de PUFA n-6 que ceux issus des femelles sauvages, suggérant ainsi un effet de la domestication sur le schéma de mobilisation des acides gras. De plus, toujours selon ces mêmes auteurs, les larves domestiques avaient tendance à consommer en premier lieu des SFA et des MUFA, alors que les larves sauvages avaient une utilisation plus sélective des acides gras durant la période d'absorption du sac vitellin. D'autres auteurs ont étudié différents traits (de la fécondation des œufs à 17 mois plus tard chez des individus en grossissement) chez le saumon atlantique (*Salmo salar*) et ils ont observé que les individus issus de géniteurs domestiques étaient deux fois plus grands que ceux issus de géniteurs sauvages (Glover et al., 2009). Chez l'omble chevalier et le doré, non seulement l'effet de la domestication sur la qualité des œufs n'est pas connu, mais la variabilité de la qualité des œufs et la survie de la progéniture dans les premiers stades de développement demeurent des défis majeurs pour atteindre une production rentable (Colby et al., 1979; Delabbio, 1995; Jobling et al., 1998).

Les réserves énergétiques des œufs

Dès la ponte, l'œuf devient un organisme indépendant (Mellinger, 2002) et doit contenir tout le matériel nécessaire, aussi bien génétique que nutritif, indispensable à sa survie. Les réserves initiales de l'œuf sont composées du vitellus et, chez certaines espèces, d'inclusions lipidiques présentes sous forme de plusieurs petites ou d'une grosse gouttelette d'huile (Wiegand, 1996; Kamler, 2005). Les réserves vitellines sont produites durant la

vitellogénèse. Elles contiennent une quantité importante de protéines et de lipides polaires, plus particulièrement des lipoprotéines et des phosphoprotéines (Henderson & Tocher, 1987; Wiegand, 1996; Pickova & Brännäs, 2006) ainsi que des acides aminés libres, des glucides, des vitamines et des minéraux (Mellinger, 2002), qui joueront un rôle important par exemple dans la formation de tissus neuronaux et la structure membranaire (Henderson & Tocher, 1987). Les inclusions lipidiques contiennent principalement des lipides neutres, tels que des triacylglycérols et des cires estérifiées (Parrish, 1999), qui jouent un rôle de réserves énergétiques (Kamler, 2008). La quantité de lipides présents dans l'œuf va grandement varier en fonction de l'espèce et de la taille de l'œuf. Ainsi, les œufs des ombles sont très riches en lipides, avec une proportion importante de lipides de réserves (Pickova & Brännäs, 2006) ce qui s'explique par le fait que la durée d'incubation est longue (Cowey et al., 1985; Wiegand, 1996). À l'inverse, les œufs de doré, qui ont une durée d'incubation beaucoup plus courte, sont relativement moins riches en lipides.

L'utilisation des réserves

La quantité et la qualité des réserves contenues dans l'œuf jouent un rôle important dans la durée du développement de l'embryon (Mellinger, 2002). Le vitellus constitue une réserve de nutriments pour l'embryon et l'alevin. Il sera utilisé pour supporter le métabolisme en lui fournissant les sources d'énergie nécessaires à son fonctionnement (Kamler, 2008). Ces sources d'énergie sont au nombre de trois : les glucides, les protéines et les lipides (Desrosiers et al., 2008). Ces différentes sources d'énergies ne seront pas utilisées simultanément par l'embryon. Au tout début du développement embryonnaire, ce sont de toutes petites molécules, tels que les glucides et les acides aminés libres, qui sont utilisées (Terner, 1979; Vetter et al., 1983; Mommsen & Walsh, 1988; Finn et al., 1996; Lahnsteiner, 2005). Chez les stades embryonnaires plus avancés, l'activité de la glycolyse, donc l'utilisation des glucides comme source d'énergie, diminue et l'utilisation des réserves protéiques vitellines prend de l'importance dans l'apport d'énergie pour la croissance de l'embryon (Terner, 1979; Hilton et al., 2008; Kamler, 2008). Quant aux lipides, ils constituent une source d'énergie importante tout au long du développement embryonnaire.

et leur utilisation varie en fonction de l'espèce considérée (Henderson & Tocher, 1987; Sargent et al., 1999).

Les acides aminés

Les acides aminés sont des molécules ayant des fonctions importantes chez les animaux, avec une vingtaine d'entre eux composant les protéines. Ces molécules possèdent un groupement carboxyle (COOH) et un amine (NH₂) (Campbell & Reece, 2007). Plusieurs études chez différentes espèces ont démontré l'importance des acides aminés libres durant les premières étapes de vie des embryons. Chez des espèces marines comme le turbot, le flétan de l'Atlantique ou la limande-sole, durant la période d'alimentation endogène, environ 70 % des acides aminés libres sont utilisés comme substrat énergétique, alors que le 30 % restant est polymérisé en protéines. La résorption des acides aminés se fait en parallèle avec la consommation progressive du sac vitellin (Rønnestad & Fynn, 1993; Rønnestad et al., 1992). Une bonne croissance embryonnaire et larvaire dépend donc grandement de la disponibilité en acides aminés libres pour la synthèse protéique (revu par Bruslé & Quignard, 2004). Une fois la résorption du sac vitellin terminée, l'importance des acides aminés reste bien présente, obligeant ainsi les poissons à trouver les acides aminés nécessaires dans leur alimentation, certains étant indispensables au bon fonctionnement du métabolisme (Ketola, 1982). Parmi ces acides aminés indispensables ou essentiels, on retrouve la lysine (elle intervient dans l'absorption du calcium, la production d'anticorps et d'enzymes ou la réparation des tissus), la méthionine (elle intervient dans la méthylation des protéines et de l'ADN), l'arginine (intervient dans le métabolisme de l'azote, en tant que substrat majeur pour la production d'oxyde nitrique, qui régule entre autre le métabolisme du glucose et des acides gras) ou le tryptophane (précurseur de la sérotonine, intervenant dans la modulation de la prise alimentaire); une carence pour ces acides aminés aurait pour effet non seulement de diminuer la croissance, mais également le taux de renouvellement protéique (revu par Conceição et al., 2012). En plus d'être présents dans leur alimentation, ceux-ci doivent l'être en quantités adéquates, des excès étant autant préjudiciables sur la croissance que des carences (Ketola, 1982).

Les lipides et les acides gras

De nombreuses études ont démontré l'importance des lipides, aussi bien en tant que lipides de structure ou de réserves chez les embryon et alevins. Chez les deux espèces qui nous intéressent, leurs effets sur la survie au cours des premiers stades de développement restent peu connus et les études disponibles présentent des résultats contradictoires (Moodie et al., 1989; Pickova & Brännäs, 2006; Johnston et al., 2007; Mansour et al., 2011).

Les lipides se différencient en lipides neutres (ou apolaires), soit les triacylglycérol et les cires estérifiées et en lipides polaires, principalement des phospholipides (revu par Klein, 1978). Dans les œufs, les premiers sont présents dans la ou les inclusions d'huile, alors que les lipides polaires sont principalement présents dans le vitellus. Les acides gras sont une des composantes importantes des lipides. D'un point de vue chimique, un acide gras est un acide carboxylique (hydrophile) possédant une chaîne aliphatique (hydrophobe) carbonée et terminée par un groupement méthyle (CH_3). Un acide gras peut être *saturé*, lorsque tous les atomes de carbone de la chaîne sont liés par des liaisons simples, assurant ainsi un maximum de liaisons entre atomes d'hydrogène et de carbone, ou *insaturé*, lorsqu'il y a présence d'une ou plusieurs doubles liaisons, entre atomes de carbones, formées par l'élimination d'atomes d'hydrogènes de la chaîne carbonée (Campbell & Reece, 2007). La notation communément acceptée pour les acides gras est fonction du nombre d'atomes de carbone (C), ainsi que du nombre (X) et de la position (Y) des doubles liaisons. Dans toute cette thèse, les acides gras seront identifiés selon la formulation C:Xn-Y.

Dans les œufs de poissons, les lipides polaires sont généralement très riches en acides gras poly-insaturés (PUFA) n-3 et en acide arachidonique ($\text{C}_{20:4\text{n}-6}$, ARA) et dans une moindre mesure en acides gras saturés (SFA), alors que les lipides neutres contiennent principalement des acides gras mono-insaturés (MUFA), soit avec une seule double liaison (Wiegand, 1996). Les PUFA sont indispensables à la croissance et au développement des embryons, mais également durant toute la vie du poisson (revu par Bruslé & Quignard, 2004), mais les poissons n'ayant pas la capacité métabolique pour les synthétiser *de novo*,

ils doivent obligatoirement les trouver dans leur alimentation (Sargent et al. 1999). Pour cette raison, les acides linoléique (C18:2n-6) et α -linolénique (C18:3n-3) sont des acides gras dit « essentiels » (EFA) et c'est à partir d'eux que les poissons d'eau douce principalement vont pouvoir synthétiser d'autres PUFA, tels que les acides eicosapentaénoïque (C20:5n-3, EPA), arachidonique et docosahexaénoïque (C22:6n-3, DHA) via différentes réactions d'élongation ou de désaturation assurées par différentes enzymes (Figure 7) (Jobling, 2004). En effet, les poissons d'eau douce ayant accès à des quantités importantes d'acides α -linolénique dans leur alimentation en milieu naturel (mais des quantités très faibles de DHA par exemple), leurs capacités de biosynthèse de PUFA *n*-3, tels que l'EPA et le DHA, est beaucoup plus importante que celle des poissons marins, qui eux retrouvent ces derniers (EPA + DHA) directement dans leur alimentation (Henderson & Tocher, 1987; Sargent et al., 2002; Turchini et al., 2006). L'EPA, le DHA et le ARA sont des acides gras poly-insaturés intervenant dans différents processus durant le développement embryonnaire; ils doivent donc être présents en quantité suffisante pour permettre un développement adéquat. En effet, ils interviennent aussi bien dans la croissance que dans la formation de tissus et dans diverses activités métaboliques (activité membranaire ou régulation métabolique par exemple) qu'au niveau du système immunitaire via les eicosanoïdes (Watanabe, 1982; Sargent et al., 2002; Olsen et al., 2004).

Chez le doré et l'omble chevalier, l'effet des réserves lipidiques sur la survie de l'embryon est encore mal connu et de nombreux points restent à éclaircir. Cependant, chez le doré, Wiegand et al. (2004) ont démontré que le contenu en lipides de structure (fraction neutre) des œufs diffère selon l'origine des femelles et Czesny & Dabrowski (1998) ont montré que des œufs provenant de femelles sauvages présentent un contenu en lipides plus élevés que ceux issus de femelles d'élevage. Ce contenu en lipides et en acides gras (plus particulièrement les PUFAs) a été démontré comme étant très important dans la survie des embryons (Czesny & Dabrowski, 1998; Johnston et al., 2007). De plus, l'étude de Czesny et Dabrowski (1998) a démontré qu'un déficit en PUFA *n*-3 dans les œufs pouvait induire l'arrêt complet du développement. Chez l'omble chevalier, deux études ont mis en évidence des différences de survie entre des populations sauvages et d'élevage, reliées au contenu en

ARA des œufs, qui serait plus élevé aussi bien dans les fractions neutre et polaire des œufs sauvages présentant une viabilité plus élevée (Pickova & Brännäs, 2006; Pickova et al., 2007) Cette viabilité plus élevée pourrait être due à une meilleure résistance à des conditions stressantes, des concentrations élevée d'ARA pouvant être un signe de la stimulation du système immunitaire, tel que suggéré par Plante et al. (2007) chez des larves d'aiglefin (*Melanogrammus aeglefinus*). À l'inverse, une étude portant sur la même souche d'ombles chevalier (la Fraser) que celle utilisée durant cette thèse n'a trouvé aucune corrélation entre le contenu en lipides et acides gras des œufs et les différents taux de survie obtenus (Mansour et al., 2011).

Enzyme	Fatty acid series			
	n-7	n-9	n-6	n-3
	16:0	18:0		
Δ9 desaturase	↓	↓		
	16:1 n-7	18:1 n-9	18:2 n-6	18:3 n-3
Δ6 desaturase	↓	↓	↓	↓
	16:2 n-7	18:2 n-9	18:3 n-6	18:4 n-3
elongase	↓	↓	↓	↓
	18:2 n-7	20:2 n-9	20:3 n-6	20:4 n-3
Δ5 desaturase	↓	↓	↓	↓
	18:3 n-7	20:3 n-9	20:4 n-6	20:5 n-3
elongase	↓	↓	↓	↓
	20:3 n-7	22:3 n-9	22:4 n-6	22:5 n-3
elongase			↓	↓
			24:4 n-6	24:5 n-3
Δ6 desaturase			↓	↓
			24:5 n-6	24:6 n-3
(β-Oxidation)			↓	↓
			22:5 n-6	22:6 n-3

Figure 7. Voies de biosynthèse des acides gras par l'élongation et la désaturation des chaînes aliphatiques chez les poissons. Tiré de Jobling (2004).

La croissance

La croissance est la résultante de nombreux processus physiologiques et comportementaux complexes, débutant par l'acquisition de l'énergie via l'alimentation et donnant lieu à la formation de tissus via les protéines (Brett, 1979). Chez les poissons en général, la croissance présente la particularité d'être continue tout au long de la vie du poisson (revu par Weatherley & Gill, 1987), mais également d'être flexible en fonction du milieu. Durant la vie du poisson, la vitesse de croissance va fluctuer selon le stade de développement et en fonction des saisons. Chez le menhaden de l'Atlantique (Power & Walsh, 1992), c'est au stade alevin, lors du passage de l'alimentation endogène (c'est-à-dire lorsque le sac vitellin est encore présent) à l'alimentation exogène que la vitesse de croissance sera la plus rapide, comme mis en évidence chez la carpe, avec une croissance journalière de 20 à 30 % de sa masse (Bryant & Matty, 1981). À l'inverse, chez des individus adultes, lors des périodes de reproduction, la croissance peut être ralentie, au profit de la synthèse des gamètes, l'énergie étant alors allouée préférentiellement à la reproduction à cette période-là (revu par Wootton, 1998). De plus, de nombreuses espèces démontrent des profils saisonniers de croissance, généralement étroitement liés à l'environnement dans lequel vit l'individu. C'est le cas chez l'omble chevalier anadrome, qui va avoir de fortes périodes de croissance durant le printemps et l'été, lorsqu'il migre en eau salée, alors que lors du retour en eau douce à l'automne et en hiver (pour la reproduction), la croissance devient quasiment nulle (Boivin & Power, 1990; Jørgensen et al., 1997). Ce rythme saisonnier de croissance observé chez des individus sauvages semble également persister en pisciculture (Tveiten et al., 1996) (Figure 8).

Alimentation et appétit

Après l'éclosion, l'alevin vésiculé vit pendant un certain temps sur ses réserves vitellines (la durée étant fonction de la quantité des réserves), puis entame progressivement sa phase d'alimentation exogène. C'est à ce moment-là qu'intervient l'étape importante de la première alimentation. Chez les poissons, cette étape est considérée comme étant la phase

la plus critique de début de vie des alevins (revu par Watanabe & Kiron, 1994) et il n'est pas rare d'observer des taux de mortalité de plus de 20 % à ce stade de développement (revu par Wallace & Aasfjord, 1984a). Chez l'omble chevalier, il a été suggéré que pour diminuer ce taux de mortalité, l'augmentation de la disponibilité de la nourriture tout au long de la journée pourrait être une solution (Burke et al., 2005).

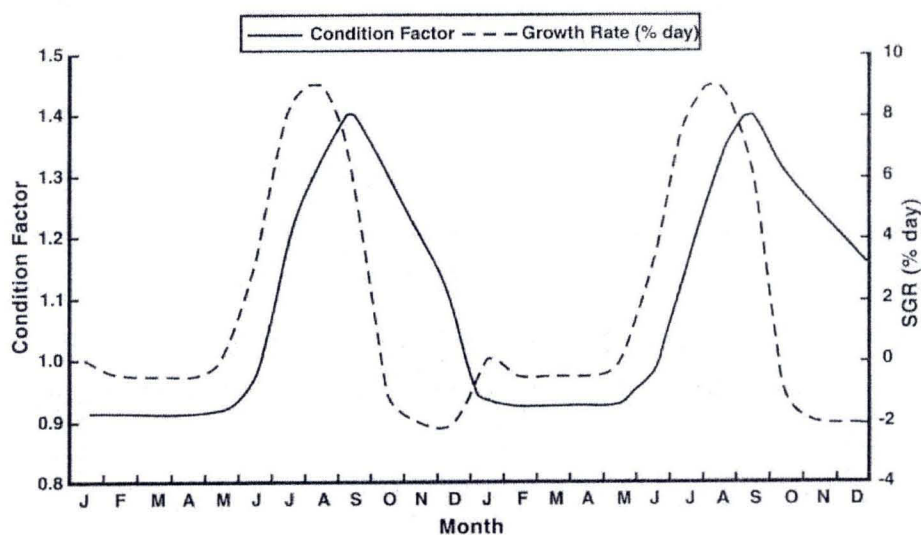


Figure 8. Changements saisonniers des taux de croissance et facteurs de condition chez les ombles chevalier immatures. Tiré de Johnston (2002).

La moulée

Peu importe le type d'élevage considéré (aussi bien en agriculture qu'en aquaculture), une alimentation, et donc une moulée adéquate, est à la base d'une bonne production. Une bonne alimentation doit avant tout tenir compte des besoins nutritionnels de l'espèce considérée. Ces besoins sont divisés en deux types de nutriments : des macronutriments (protéines, lipides et glucides) et des micronutriments (vitamines essentielles, minéraux et caroténoïdes) (revu par Johnston, 2002). Afin d'assurer une bonne croissance des individus, ces différents nutriments doivent être présents en quantités adéquates, en tenant compte des

besoins alimentaires de l'espèce (Gurure et al., 2007). Alors que les macronutriments vont principalement être utilisés pour produire de l'énergie ou de la croissance, les micronutriments eux sont nécessaires en tant que cofacteurs dans des réactions enzymatiques (De Silva & Anderson, 1995).

Les protéines alimentaires, dont le contenu énergétique est de 24 MJ/kg (ou 5,65 kcal/g), sont une source d'énergie supportant les diverses fonctions métaboliques, ainsi qu'une source d'acides aminés essentiels pour la synthèse de nouvelles protéines importantes pour la croissance (revu par Johnston, 2002). Chez les poissons carnivores, comme l'omble chevalier et les salmonidés en général, l'apport en protéines doit représenter 40 à 50 % de l'énergie provenant de l'alimentation (Jobling, 1994), avec des besoins diminuant avec l'âge (Tabachek, 1984; de Silva & Anderson, 1995). Les besoins en acides aminés sont une fois encore spécifiques à l'espèce et au stade de développement et il est essentiel que la quantité et la qualité de ceux-ci soit optimale afin de permettre une bonne croissance (Conceição et al., 2003). Chez l'omble chevalier adulte, la quantité de protéines nécessaire varie entre 35 et 50 % selon les études et deux acides aminés semblent plus limitant que les autres, soit la lysine et la méthionine (Jobling & Wandsvik, 1983; Jobling, 1994; Tye, 1997; Simmons & Moccia, 1997). Ainsi les besoins de l'omble chevalier semblent plus proches de ceux du saumon atlantique que de ceux de la truite arc-en-ciel (Jobling & Wandsvik, 1983; Jobling, 1994; Gurure et al., 1995; Gurure et al., 2007), sans être pour autant complètement similaires.

Les lipides contenus dans l'alimentation, dont le contenu énergétique est de 40 MJ/kg (ou 9,45 kcal/g), comprennent les graisses, les phospholipides et les acides gras et sont principalement utilisés pour stocker de l'énergie, mais également comme composants des membranes et comme précurseurs pour les eicosanoïdes (Johnston, 2002). Comme vu précédemment, certains acides gras sont dits essentiels et doivent nécessairement se retrouver dans l'alimentation des poissons à des quantités minimales de 10 g/Kg (voir Olsen & Henderson, 1997). Cependant, la quantité de lipides dans l'alimentation ne doit pas excéder une certaine proportion, propre à chaque espèce, comme démontré par plusieurs études chez différentes espèces, dont l'ombrine ocellée (*Sciaenops ocellatus*), le

mérou à tâches oranges (*Epinephelus coioides*), le cobia (*Rachycentron canadum*), l'acoupa blanc (*Atractoscion nobilis*) ou le maigre (*Argyrosomus regius*) (Ellis & Reigh, 1991; Luo et al., 2005; Wang et al., 2005; López et al., 2006; Chatzifotis et al., 2010). En effet, un régime trop riche en lipides proportionnellement au contenu en protéines pourrait induire des retards de croissance, ainsi que des déséquilibres métaboliques induits par l'accumulation de lipides dans le foie, possiblement dû à l'absence de certains outils métaboliques, tels que les lipoprotéines de basse et très basse densité (« LDL » et « VLDL » en anglais) par exemple, permettant d'éliminer les lipides hépatiques vers les tissus. En d'autres termes, un régime riche en lipides pourrait être correctement assimilé si le contenu en protéines est assez élevé, comme démontré chez des bars rayés de moins d'un an, qui présentaient le même taux de croissance lorsque nourris avec des moulées contenant 57 % de protéines et 17 % de lipides ou 47 % de protéines et 12 % de lipides (Millikin, 1983). Chez l'omble chevalier de moins d'un an, une étude portant sur la souche Nayuk a démontré que cette proportion de lipides ne devrait pas dépasser 20 % pour un taux de protéines de 54 % (Tabachek, 1986).

Les glucides sont une autre classe de macronutriments présents dans les moulées, mais qui ne jouent pas un rôle majeur dans l'alimentation naturelle des salmonidés (Johnston, 2002), avec un contenu énergétique plus faible que les autres macronutriments, de 17 MJ/kg (ou 4,1 kcal/g). Dans les moulées préparées, ils sont souvent utilisés pour remplacer partiellement les protéines, essentiellement pour des raisons liées au coût de production, mais également comme liant (via l'amidon), pour palier à la mauvaise compaction d'une moulée riche en protéines et lipides. Cependant, une étude a démontré qu'aussi bien chez la truite arc-en-ciel que chez le poisson rouge, une moulée riche en glucides induirait une accumulation excessive de glucides dans le foie sous forme de glycogène, résultant en une altération du métabolisme des protéines dans cet organe chez des organismes adaptés à des régimes alimentaires pauvres en glucides (Palmer & Ryman, 1972). De plus, les poissons carnivores ayant généralement une capacité limitée à pouvoir dégrader l'amidon, contrairement à des poissons omnivores ou herbivores, celui-ci constitue une source d'énergie moins rapidement disponible (De Silva & Anderson, 1995).

Pour l'omble chevalier, le pourcentage de glucides présent dans la moulée ne devrait pas dépasser 15 % (revu par Eriksson, 1991).

La notion de faim

La notion de faim et d'alimentation est présente chez tous les organismes. Jusqu'à récemment encore, il était généralement admis que la faim fût régulée premièrement par la concentration de glucose plasmatique et deuxièmement que les hormones régulant le métabolisme du glucose (insuline, glucagon, gluco-corticoïdes et hormone de croissance) jouaient un rôle dans la régulation de l'appétit (Takei & Loretz, 2006). Cependant il est maintenant prouvé que la régulation de l'appétit est un phénomène beaucoup plus complexe impliquant de nombreuses interactions entre le cerveau, l'hypothalamus et des signaux périphériques (Volkoff et al., 2005; Gorissen et al., 2006). Les signaux périphériques provenant d'hormones produites dans le foie ou les intestins sont de deux types : orexigène, lorsqu'ils stimulent l'appétit, ou anorexigène, lorsqu'ils l'inhibent (Volkoff et al., 2005; Gorissen et al., 2006, Volkoff et al., 2009). L'étude de la régulation de l'alimentation chez les poissons est relativement jeune et seules quelques espèces ont été étudiées, tels que le poisson rouge (*Carassius auratus auratus*), le tilapia (*Oreochromis mossambicus*), le pagre à tête noire (*Acanthopagrus schlegeli*) et la truite arc-en-ciel (revu par Kaiya et al., 2008) (Figure 9). À l'heure actuelle, deux hormones aux effets antagonistes suscitent de plus en plus d'intérêt aussi bien chez les mammifères que chez les poissons : la ghréline et la leptine.

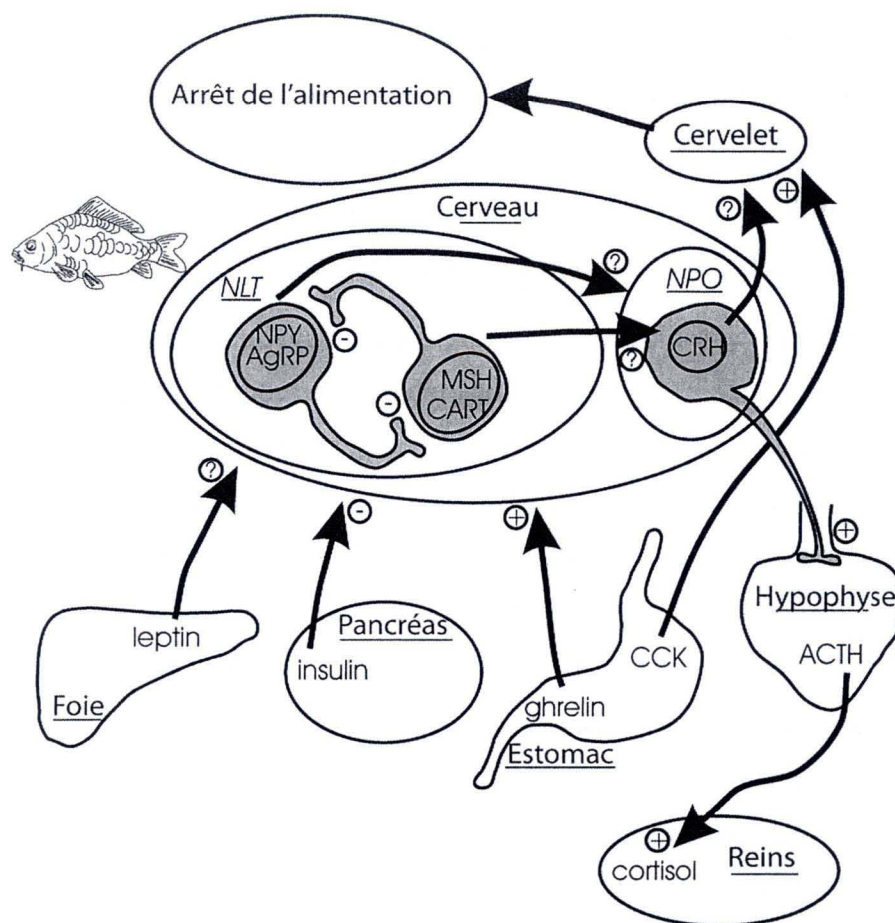


Figure 9. Régulation de l'alimentation et du métabolisme énergétique chez les poissons. Différentes hormones sont représentées, ainsi que leur lieu de synthèse et d'action. Les + représentent une activation (action orexigène), les – représentent une inhibition (action anorexigène) et les « ? » représentent des actions encore peu comprises. Abréviations : NLT : *nucleus lateralis tuberis*, NPO : *nucleus preopticus*, NPY : neuropeptide Y, AgRP : protéine Agouti, MSH : hormone mélanotrope, CRH : corticolibérine, CCK : cholécystokinine, ACTH : hormone adrénocorticotrope. Adapté de Gorissen et al. (2006).

La ghréline

Chez l'humain, la ghréline est un peptide formé de 28 acides aminés (Kojima et al., 1999), alors que chez le poisson, et en particulier chez la truite arc-en-ciel, elle n'est constituée que de 24 acides aminés (Kaiya et al., 2003). Elle est produite dans les cellules endocrines de l'estomac (Kaiya et al., 2003, 2008) et ses récepteurs spécifiques sont

localisés dans l'hypothalamus (Inui et al., 2004). Chez l'humain, les actions orexigènes de la ghréline sur le métabolisme sont bien connues. Par exemple lors d'un jeûne, la concentration de ghréline dans le sang est élevée, puis elle va en diminuant lors de l'apport de nourriture (Gualillo et al., 2003). On peut donc dire que la concentration de cette hormone dans le sang est régulée par la prise alimentaire (voir Wynne et al., 2005).

Chez les poissons, la découverte de la ghréline est évidemment beaucoup plus récente que chez l'humain. La toute première identification du gène codant pour la ghréline chez le poisson rouge remonte à une dizaine d'années (Unniappan et al., 2002). Chez les vertébrés non-mammifères, les actions de la ghréline seraient multiples, telles que la régulation de l'appétit, l'activation de la phagocytose (immunité), la libération de lutéotropine (LH) et de l'hormone de croissance (GH), avec toujours une action directement au niveau de l'hypothalamus (Unniappan & Peter, 2005; Kaiya et al., 2008). Chez les poissons, différents chercheurs se sont intéressés aux rôles de cette hormone chez des espèces aussi bien d'eau douce que d'eau salée. Chez la lotte, ils ont montré que la ghréline serait impliquée dans la régulation de l'énergie (homéostasie), avec des concentrations qui varieraient en fonction du cycle de vie de l'individu (concentrations moins élevées lors de la reproduction, afin de stimuler l'appétit pour que les poissons recommencent à s'alimenter une fois la reproduction passée) (Mustonen et al., 2002; Nieminen et al., 2003). Chez la truite arc-en-ciel, la ghréline stimule l'appétit, la GH et la croissance (Kaiya et al., 2003; Jönsson et al., 2007), alors qu'elle régulerait également l'alimentation, la déposition des lipides, ainsi que la masse corporelle chez le poisson rouge et le tilapia (Riley et al., 2005; Unniappan & Peter, 2005). Chez l'omble chevalier, son rôle est encore très peu connu.

La leptine

La leptine est une hormone formée de 167 acides aminés (Zhang et al., 1994), codée par le gène *ob* (Harvey & Ashford, 2003). Chez les humains, elle est produite et sécrétée principalement par les adipocytes (Harvey & Ashford, 2003), alors que chez les poissons, ce serait le foie qui serait le principal lieu d'expression des ARN messagers (Huisin et al.,

2006; Murashita et al., 2008), bien qu'elle ait également été découverte dans des adipocytes chez le saumon atlantique (Vegusdal et al., 2003). La mise en évidence de sa présence chez des ectothermes, dont la perche-soleil verte (*Lepomis cyanellus*), le crapet arlequin (*Lepomis macrochirus*), l'achigan à grande bouche (*Micropterus salmoides*), la marigane blanche (*Pomoxis annularis*), la barbue de rivière (*Ictalurus punctatus*) et la truite arc-en-ciel, remonte à l'an 2000 (Johnson et al., 2000).

Différentes études ont mis en évidence le rôle anorexigène de la leptine sur la prise alimentaire, via son action directe sur le cerveau (Volkoff et al., 2003, 2005; de Pedro et al., 2006; Huising et al., 2006; Murashita et al., 2008), démontrant ainsi son action antagoniste à celle de la ghréline (Shintani et al., 2001). D'une façon générale, il est donc possible d'affirmer que le taux de leptine circulante dans le sang donne une bonne indication de la quantité de réserves énergétiques et de la prise alimentaire des individus (Wynne et al., 2005). Chez les poissons, cette hormone interviendrait également dans la reproduction. En effet, une étude sur le bar européen (*Dicentrarchus labrax*) aurait mis en évidence l'action de la leptine sur la libération de l'hormone lutéinisante (LH), qui agit au niveau des gonades pour la production d'hormones sexuelles (Peyon et al., 2001). Une autre étude, sur la lotte (*Lota lota*), a non seulement démontré que les concentrations de la leptine fluctuent lors de la reproduction (faibles avant et pendant la reproduction), mais également que les concentrations sont plus élevées chez les femelles que chez les mâles (Mustonen et al., 2002). Cependant comme pour la ghréline, aucune étude n'a encore porté sur l'influence de l'environnement sur synthèse de la leptine.

L'environnement

Chez les poissons, la croissance est régulée par deux types de facteurs : les facteurs endogènes ou biotiques, directement liés au génotype et à la condition physique du poisson, et les facteurs exogènes ou abiotiques, qui eux sont liés à l'environnement (Wootton, 1998). Dans cette section-ci, nous allons nous intéresser exclusivement aux facteurs abiotiques agissant sur la croissance, celle-ci ayant été considérée comme un indicateur de

référence pour évaluer l'état des poissons durant toute cette thèse. Ces facteurs sont la température, la salinité et la photopériode, bien que cette dernière n'aie pas été étudiée en tant que telle dans le cadre de cette thèse, tous les élevages ayant été réalisés sous des conditions naturelles de photopériode.

La température

Les poissons étant des ectothermes, leur développement est très fortement dépendant des conditions de température du milieu dans lequel ils vivent. Dès les premiers instants de vie de l'embryon, la température va jouer un rôle essentiel sur son développement. En effet, chez les poissons se nourrissant du vitellus, la température va affecter la vitesse d'utilisation du vitellus, tout comme la croissance de l'embryon (Kamler, 2002; Moyle & Cech, 2004). Plus précisément, le développement et la qualité de l'œuf, telle que la composition en acides gras, vont être affectés par les températures auxquelles les embryons sont soumis (Henderson & Tocher, 1987; Brooks et al., 1997; Atse et al., 2002; Johnston et al. 2007). Au niveau des phospholipides, qui comme vu précédemment sont des composants membranaires, les acides gras seront plus insaturés chez des individus élevés en eau froide; ce phénomène se nomme une *adaptation homeovisqueuse* (Sinensky, 1974). Ainsi chaque espèce va posséder une température optimale pour le bon développement de l'embryon; chez l'omble chevalier, elle se situerait entre 2 et 7°C (Johnston, 2002). Chez les alevins, ce serait plutôt autour de 6°C que le taux d'absorption du sac vitellin serait optimal; une température plus élevée provoquerait une résorption précoce de celui-ci, obligeant l'alevin à s'alimenter plus rapidement sur de la nourriture exogène, sans être nécessairement prêt physiologiquement (Wallace & Aasfjord, 1984a). Finalement, chez des ombles chevalier plus âgés, dépendamment de la souche considérée, ce serait plus entre 12 et 18 °C que l'optimum de croissance serait rencontré (Johnston, 2002). Chez le doré, Wilson & Nagler (2006) ont démontré que la température létale supérieure variait en fonction de l'âge du juvénile, celle-ci étant de 34 °C chez des juvéniles de moins de 10 cm, alors qu'elle n'est que de 31 °C chez des individus plus âgés (de 23 cm), la température optimale en conditions d'élevage étant comprise entre 22,1 et 25,2 °C chez cette espèce.

La salinité

La salinité du milieu dans lequel le poisson vit est d'une très grande importance sur son métabolisme et donc sur sa croissance, toutes les espèces n'ayant pas les mêmes capacités d'osmorégulation. Cependant, il a été démontré à de multiples reprises, aussi bien pour les poissons marins que pour ceux d'eau douce, que les meilleures conditions de croissances sont observées à des salinités intermédiaires, c'est-à-dire en eau saumâtre (Bœuf & Payan, 2001). Cela s'expliquerait par le fait qu'à ces conditions de salinité, le métabolisme basal serait plus faible. En effet, dans ces conditions, la pression osmotique du milieu interne chez le poisson (généralement entre 9 et 12 ppt selon les espèces) égalerait celle du milieu extérieur (isotonique par rapport à son milieu) et on présume qu'il y a donc des dépenses osmo-iono-régulatrices moindres (revu par Bruslé & Quignard, 2004). Chez les juvéniles d'espèces d'eau douce, l'effet de la salinité varie selon les espèces. En effet, une salinité entre 3 et 9 ppt semble bénéfique sur la croissance de juvéniles de truite arc-en-ciel ou d'esturgeon (*Acipenser oxyrinchus*), alors qu'une salinité de 9 ppt paraît néfaste pour les juvéniles de truite brune (*Salmo trutta*) (revu par Bruslé & Quignard, 2004). Chez l'omble chevalier, il a été démontré que l'élevage en eau saumâtre serait bénéfique selon certaines conditions, telles que l'âge des poissons lors de leur transfert ou l'importance de la différence de salinité lors de celui-ci. En effet, un transfert direct de l'eau douce à une salinité de 30 ppt chez des individus âgés de plus d'un an (1+) semble peu bénéfique, ceux-ci présentant une mortalité supérieure à des individus transférés à des salinités inférieures à 20 ppt (Duston et al., 2007). De plus, chez cette espèce, les capacités osmorégulatrices semblent également dépendantes de la période de l'année, celles-ci étant plus élevées à l'été qu'à l'hiver, suggérant une pré-adaptation liée à la biologie même de l'espèce, les individus anadromes migrant en eau de mer durant les quelques mois d'été, puis retournent en eau douce le reste de l'année (Finstad et al., 1989).

La lumière

La lumière est omniprésente durant toute la vie du poisson, présentant de nombreuses variations en termes de qualité, d'intensité et de photopériode. Très peu d'études ont porté

sur les effets de la qualité et de l'intensité de la lumière sur la croissance des poissons et les résultats semblent être fonction de l'espèce (Bœuf & Falcon, 2001). L'action de la lumière sur la physiologie des poissons se fait via des photorécepteurs rétiniens et épiphysaires transmettant l'information à l'hypothalamus et c'est par celui-ci que la sécrétion de différentes hormones, dont la mélatonine, l'hormone de croissance (GH) ou les hormones thyroïdiennes T_3 et T_4 , est régulée (revu par Bœuf & Le Bail, 1999). Une étude chez des saumons juvéniles a démontré que la synthèse de la mélatonine est déterminée par l'intensité lumineuse (Bromage et al., 2001). L'effet de la photopériode sur l'organisme va ainsi affecter la croissance, mais également le synchronisme des périodes de reproduction (Bromage et al., 2001). Des études portant sur des espèces différentes ont démontré l'effet positif de l'augmentation de la photopériode sur la croissance des individus (Imslund et al., 1997; Oppedal et al., 1999; Petit et al., 2003; Taylor et al., 2006). Chez l'omble chevalier, Siikavuopio et al. (2009) ont démontré que la simulation d'une photopériode hivernale (6:18) pendant deux mois aurait un effet bénéfique sur la croissance de juvéniles ensuite élevés sous une photopériode continue. Chez le doré, les études sur les effets de la lumière ont principalement porté sur l'effet de la turbidité en milieu d'élevage, démontrant un effet positif d'une eau turbide, où la lumière est diffuse (comparativement à une eau limpide), sur les performances de nage, de croissance, ainsi que sur la viabilité des larves (Bristow et al., 1996; Rieger & Summerfelt, 1997); elle pourrait également diminuer la prédation, via le cannibalisme. En effet, un excès d'intensité lumineuse en élevage peut aller jusqu'à constituer un facteur de stress chez certaines espèces habituées à vivre dans des milieux turbides à l'état sauvage (Bœuf & Le Bail, 1999).

OBJECTIF GÉNÉRAL DU PROJET

Dans le cadre de cette thèse, nous avons ciblé deux espèces d'eau douce, soit le doré jaune et l'omble chevalier, ayant une certaine valeur économique et commerciale et présentant des caractéristiques aquacoles intéressantes pour l'élevage dans les conditions environnementales de l'est du Canada. Bien que la production de ces deux espèces soit déjà bien présente en Amérique du Nord, certains aspects présentent encore des défis importants et limitent le développement de la production, notamment au niveau de la qualité des œufs.

Comme vu précédemment, chez le doré, une large portion de la production est encore grandement dépendante d'un approvisionnement en gamètes issus du milieu naturel, ce qui ne paraît pas optimal dans le cadre d'une production commerciale. De plus, différentes étapes dans l'élevage semblent encore peu maîtrisées, probablement par un manque de connaissances sur la biologie de cette espèce. Pour l'omble chevalier, bien que le maintien des géniteurs en pisciculture soit bien maîtrisé, la qualité des œufs produits par ces derniers semble encore très variable, induisant donc des taux de survie très variables dans les premiers stades de développement (Pickova & Brännäs, 2006). De plus, il est communément accepté d'utiliser de la moulée pour salmonidés pour l'élevage de cette espèce, alors que plusieurs études ont démontré des besoins différents en lien avec la biologie et l'écologie de l'omble chevalier. Finalement, bien que certaines populations soient anadromes, à l'heure actuelle aucun n'élevage n'exploite encore pleinement ce potentiel pour améliorer la croissance de l'omble chevalier.

Premier objectif de recherche

Notre premier objectif est d'étudier comment l'alimentation des géniteurs sauvages et d'élevage influence la qualité des réserves des œufs.

Notre hypothèse de travail (H_0) est que l'alimentation n'a pas d'effet sur la qualité des œufs produits par des géniteurs sauvages ou d'élevage.

Deuxième objectif de recherche

Notre deuxième objectif est de mettre en évidence comment les conditions de température affectent l'utilisation des acides gras pendant les premières étapes du développement chez l'omble chevalier.

Notre hypothèse de travail (H_0) est qu'il n'y a pas d'effet des conditions de température sur l'utilisation des acides gras pendant les premières étapes du développement embryonnaire chez l'omble chevalier.

Troisième objectif de recherche

Notre troisième objectif est de déterminer quels sont les effets du régime alimentaire sur la croissance et le contenu énergétique d'ombles chevalier de moins d'un an, en utilisant des moulées artisanales qui diffèrent en termes de contenus en protéines et lipides.

Notre hypothèse de travail (H_0) est qu'il n'y a pas d'effet du régime alimentaire ni sur la croissance, ni sur le contenu énergétique des ombles chevalier de moins d'un an, nourris avec des aliments contenant différentes proportions de protéines et de lipides.

Quatrième objectif de recherche

Notre quatrième objectif est de vérifier si la salinité du milieu d'élevage influence la croissance d'ombles chevaliers en grossissement ainsi que les niveaux plasmatiques de leptine et ghréline.

Notre hypothèse de travail (H_0) est qu'il n'y a pas d'effet de la salinité sur la croissance, ni sur la concentration plasmatique des hormones leptine et ghréline chez des ombles chevalier 1+ élevés en eau saumâtre.

CHAPITRE 1

LES LIPIDES EN TANT QU'INDICATEURS DE LA QUALITÉ DES ŒUFS CHEZ DES DORÉS JAUNE D'ÉLEVAGE

RÉSUMÉ

En Amérique du Nord, le doré (*Sander vitreus*) est une espèce importante de par l'importance de sa pêche récréative. Cependant sa production est encore largement dépendante de géniteurs sauvages, dont la descendance démontre des taux de survie variables en pisciculture. Notre objectif était donc d'étudier comment l'alimentation de géniteurs sauvages et d'élevage influence la qualité des réserves de l'œuf. Pour cela, les contenus lipidiques et les caractéristiques des œufs de femelles sauvages ont été comparés avec ceux d'œufs de doré issus de géniteurs élevés dans deux piscicultures différentes et nourris avec des régimes alimentaires différents. Les contenus en lipides totaux, ainsi que les classes lipidiques semblaient être bien conservés chez les œufs issus de femelles de première génération par rapport aux œufs de géniteurs sauvage. Cependant, plusieurs acides gras (α -linolenic acid, AA, and DHA) étaient en concentration moindre dans les œufs de femelles domestiquées, probablement à cause de leur alimentation. Finalement, la domestication sur plusieurs générations n'a pas semblé modifier différentes caractéristiques des œufs, dont la taille et leur contenu en lipides. Par contre le profil en acides gras a été affecté et la présence d'une diminution du DHA et de AA pourrait diminuer la résistance au stress et affecter l'acclimatation au froid.

Ce premier article, intitulé « *Lipids as egg quality indicators in captive walleye* », fut corédigé par moi-même ainsi que par les professeurs Réjean Tremblay, Jonathan Gagnon, Sébastien Plante et Céline Audet. Il sera soumis durant l'hiver 2013 aux éditeurs de la revue *North American Journal of Aquaculture*. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la recherche sur l'importance des lipides dans les œufs, les analyses de laboratoire, le traitement des résultats et la rédaction de l'article. Le professeur

Réjean Tremblay, second auteur, a aidé à la recherche sur l'importance des lipides, aux méthodes d'analyses, à l'approche statistique, ainsi qu'à la révision de l'article. Jonathan Gagnon, troisième auteur a aidé au développement de la méthode d'analyse des acides gras, ainsi qu'à la révision de l'article. Sébastien Plante, quatrième auteur, a aidé à la révision de l'article. Louise Therrien, cinquième auteur, a aidé aux échantillonnages, ainsi qu'à la révision de l'article. Céline Audet, sixième auteur, a contribué à l'idée originale, a aidé à l'approche statistique, ainsi qu'à la révision de l'article. Une version abrégée de cet article a été présentée à la *Réunion annuelle du Réseau Aquaculture Québec*, à Québec, à l'automne 2010.

LIPIDS AS EGG QUALITY INDICATORS IN WILD AND FARMED WALLEYE

ABSTRACT

In North America, the walleye (*Sander vitreus*) is a highly valuable species due to its recreational fishery. However, its production is still largely dependent on wild breeders, whose offspring have variable survival success in farm production. The objective of our study was to test how feeding influence egg quality from wild and farmed walleye breeders. To do so, lipid contents, and characteristic of eggs from wild females recently captured, spawned and released were compared with those obtained from different farmed breeders produced in two different fish farms and fed different diets. Total lipid and lipid class profiles seemed to be well conserved in eggs from first generation females compared to eggs from wild females; however, several fatty acids (α -linolenic acid, AA, and DHA) had lower in eggs from domesticated females, probably due to the supplied diet. Several generations of domestication did not seem to modify several egg characteristics, such as egg size, total lipid content, or lipid classes, but a decrease of DHA and AA was observed that could lower resistance to stress and affect cold acclimation.

Keywords: walleye, egg quality, lipids, fatty acids, domestication effect

INTRODUCTION

In breeders captured from the wild, stress of captivity and diet are two factors that would undoubtedly affect reproductive success (e.g. Brooks et al., 1997). As wild fish do not readily accept food when transferred in aquaculture facilities, this enhances the difficulty to provide all necessary nutrients to females. Most fish species provide no parental care, so eggs must contain all the nutrients required for embryo development, growth, and survival before and after hatching (Hilton et al., 2008). In freshwater species like percids and salmonids, egg reserves are mainly present in the yolk and oil globule (Kamler, 2005). In yolk-feeding fish, the oil globule mainly contains reserve lipids in the form of neutral lipids such as triacylglycerols and wax esters, while the yolk has high concentrations of proteins and polar lipids such as phospholipids (Wiegand, 1996; Pickova & Brännäs, 2006; Kamler, 2008). Egg lipids are involved in neural tissue formation and membrane structure (Henderson & Tocher, 1987). Fatty acids are also of great importance in freshwater fish eggs, especially essential fatty acids (EFA) such as (n-3) and (n-6) PUFA (Ackman & Takeuchi, 1986; Schwalme et al., 1993). Thus, lipid content and characteristics (lipid classes and fatty acid profile) are major determinants of egg quality. Egg quality is of great importance in fish production (Brooks et al., 1997): good quality eggs will have lower mortality rates at the different developmental stages (Bromage et al., 1992, Kamler, 2005).

Walleye (*Sander vitreus*) eggs range from 1.37 to 2.12 mm in diameter and possess a large oil globule (Colby et al., 1979) whose size varies depending on egg size (Moodie et al., 1989). Johnston & Leggett (2002) reported that walleye egg quality is related to egg size and lipid composition, with larger eggs being characterized by a larger yolk and oil globule and thus higher nutritional reserves than smaller ones. Egg incubation time ranges from 10 to 20 days depending on temperature. After hatching, larvae feed on yolk reserves for several days before exogenous feeding takes place (Colby et al., 1979). At this time, lipids initially present have mostly been used, suggesting that egg fatty acid composition is important for offspring viability (Moodie et al., 1989, Johnston et al., 2007).

Wiegand et al. (2004) showed that fatty acid profiles in polar lipids were similar in females originating from different walleye populations; this is unlike the situation for neutral lipids, which show marked variability in fatty acid characteristics. Czesny & Dabrowski (1998) compared two wild (Lake Erie and Salt Fork Reservoir) and one domesticated (London State Fish Hatchery) walleye population under the same temperature conditions and found that total lipid concentrations in eggs from domesticated fish were lower than those from wild fish and were characterized by different fatty acid profiles.

In North America, the walleye is a valuable fish species, especially because of its exploitation in recreational fisheries. Annual production in North America is more than 10^9 fingerlings, which are used for stocking lakes and rivers (Fenton et al., 1996). However, most of this production is from eggs and sperm collected from wild fish (Mauk & Brown, 2001), and offspring survival is highly variable (Colby et al., 1979). The development of farmed populations and improvement of survival at hatch could mitigate this problem. Thus the objective of our study was to test whether differences in lipids and essential fatty acids could explain the poor survival obtained with early domesticated walleye.

MATERIAL AND METHODS

Fish rearing and sampling

In spring 2010, several spawnings from different origins were incubated separately under natural temperature and photoperiod conditions. The different origins were (1) eggs from wild breeders captured, spawned and released in 2010 (Du Cerf Lake, PQ, Canada, 46°54'N, 75°29'W); (2) eggs from F0 breeders produced in 2003 at the Pisciculture des Trois-Lacs (PTL) in the Victoriaville area (F0-PTL, 45°44'N, 71°48'W) from wild fish captured, spawned and released at the Rivière-des-Prairies, PQ, Canada (45°37'N, 73°37'W); (3) eggs from F0 breeders produced from 1996 to 1999 at the Pisciculture André Paquette (PAP) in the Mont-Laurier area (F0-PAP, 46°39'N, 75°28'W) from wild fish captured, spawned and released at the Tapani Lake, PQ, Canada (46°54'N, 75°19'W); and

eggs from (4) an F1 (F1-PAP) and (5) an F2 (F2-PAP) generation of domesticated breeders produced at PAP (Table 1). Egg-layings were incubated in the farmed where they were produced, except for wild one that was incubated at the PTL. Farmed breeders maintained in captivity were fed one of two different salmonid feeds: “Broodstock” feed from Martin Mills Inc. (Elmira, Canada) or Vitalis from Skretting (Stavanger, Norway); feed was sometimes supplemented with live or dead cyprinid and/or trout (Table 1).

Table 1. Broodstock origin (wild, F0, as F0-PTL and F0-PAP, F1, and F2), year of capture or breeding, and food source during rearing.

Breeder	Year	Food
Wild	2010	Feeding in the wild
F0-PTL ^a	2003	SFS ^c + cyprinid + trout
F0-PAP ^b	1996–1999	SFMM ^d
F1-PAP	2001	SFMM + cyprinid + trout
F2-PAP	2005	SFMM + trout

^a PTL: Pisciculture des Trois Lacs; ^b PAP : Pisciculture André Paquette; ^c SFS : Salmonid feed – Vitalis by Skretting; ^d SFMM : Salmonid feed – Broodstock feed by Martin Mills Inc.

At spawning, egg diameter from 10 samples for each treatment was measured under 20× magnification with a digital camera (Evolution VF, Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA) coupled with a dissecting microscope (Olympus SZ61, Don Mills, ON, Canada) using the Image Pro-Plus 5.0 software (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA). Aliquots of 1 mL of eggs (pools of ~50 eggs) were frozen at -80°C for later lipid and fatty acid analyses. At this time, female breeders were weighed, measured, and condition factor (K) was calculated using the following formula:

$$K = (W \times 100) / L^3$$

where W represents the total weight in grams and L the length in centimetres.

Biological analysis

Lipid analyses were performed on two egg pools per female. Lipids were extracted in chloroform–methanol according to Parrish (1999) using the modified Folch procedure (Folch et al, 1957). For lipid class determination, a 3 μ L aliquot of each extract was spotted onto chromarods coated with silica gel (S-III, Iatron Laboratories, Tokyo, Japan). Lipid classes were separated using three solvent systems according to Parrish (1999), and classes were then determined by thin layer chromatography with flame ionization detection (TLC-FID) using an Iatroscan MK-6s (Iatron Laboratories, Tokyo, Japan) as described in Parrish (1987). Chromatograms of wax esters (WE), ketones (KET), triacylglycerols (TAG), free fatty acids (FFA), free sterols (ST), acetone-mobile polar lipids (AMPL), and phospholipids (PL) were quantified using the PeakSimple software (v3.29, SRI Inc., Torrance, CA, USA).

Aliquots of 200 μ g of lipid extracts were separated into neutral (NL) and polar (PL) lipids using 100 mg column chromatography on silica gel hydrated with 6% water as described by Marty et al. (1992). Each fraction was dried and fatty acid methyl esters (FAMES) prepared using 2% H_2SO_4 in methanol at 100°C. Neutral lipids were purified from sterol using 100 mg column chromatography on silica gel with hexane and diethylether (5%). FAMES were analyzed using a GC-MS (Trace GC Ultra – ITQ 900, Thermo Scientific) equipped with an OmegawaxTM 250 fused silica capillary column (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m film thickness; Supelco, PA, USA). Helium was used as the carrier gas at a constant flow of 1 mL/min. The injector temperature was 250°C, and 1 μ L of each sample was injected in splitless mode. Oven temperature was initially held for 2 min at 100°C followed by two temperature ramps: 10°C / min to 140°C (4 min) and 5°C / min to 270°C (26 min). FAMES were identified using commercial standards from 37 Component FAME Mix (Supelco, Bellefonte, PA, USA). A methyl ester of nonadecanoic acid (19:0) purchased from Sigma was used as internal standard. We used the Xcalibur software (version 2.1.0.1140, Thermo Fisher Scientific Inc.) to analyze chromatograms.

Data analysis

Data normality was tested using the Kolmogorov-Smirnov (K-S) test and homoscedasticity by the Brown and Forsythe test (Quinn & Keough, 2005). Significant differences among breeder origin on egg diameter, lipid classes, and fatty acids were analysed with one-way ANOVAs. When relevant, a posteriori Tukey tests were performed. We used the Games and Howell test when arcsine transformations failed to provide homoscedasticity (for percentage data). Statistical analyses were performed using Statistica version 10.0 for Windows (Statsoft Tulsa, OK, USA) with a significance level of $\alpha = 0.05$. Games and Howell tests were performed using SPSS version 18.0 for Windows (IBM SPSS, Armonk, NY, USA).

RESULTS

Females captured from the wild in 2010 were longer ($F_{4,118} = 103.97, p < 0.001$) and larger ($F_{4,118} = 151.41, p < 0.001$) than all other breeder origins (Table 2) and their eggs were larger than those of other females (2.19 ± 0.13 mm, $F_{4,89} = 44.05, p < 0.001$). Eggs from F0-PTL females were larger than those from F0-PAP, F1-PAP, and F2-PAP, while these last three had similar diameters (Figure 10). Eggs from wild females had much better higher survival rates at hatch (91.0%) than eggs from other origins, and that of F0-PTL was the lowest (0.6%).

There was a significant origin effect for total lipid content of eggs (Table 3, $F_{4,16} = 4.12, p = 0.017$), but the a posteriori test did not allow us to distinguish significantly different sub-groups. Wax esters (WE, $39.5 \pm 4.3\%$), triacylglycerols (TAG, $35.6 \pm 7.1\%$), and phospholipids (PL, $20.3 \pm 4.7\%$) were the most abundant lipid classes present in walleye eggs, and lipid class composition was similar among the different egg batches (Table 3).

Table 2. Mass, fork length, and condition factor (K) of wild, F0 (F0-PTL and F0-PAP), F1, and F2 females breeders used and survival rate at hatch for each group. Superscript letters represent significant differences among brood fish.

Breeder	♀ Weight (g)	♀ Fork length (cm)	♀ <i>K</i>	Survival rate at hatch (%)
Wild	4199.50 ± 847.67 ^x	67.69 ± 3.87 ^x	1.35 ± 0.20 ^y	91.0
F0-PTL ^a	1307.12 ± 142.31 ^z	47.81 ± 1.61 ^z	1.19 ± 0.07 ^{zy}	0.6
F0-PAP ^b	1276.88 ± 413.34 ^z	48.59 ± 4.22 ^z	1.08 ± 0.11 ^z	24.4
F1-PAP	1970.94 ± 284.95 ^y	54.23 ± 2.90 ^y	1.24 ± 0.20 ^y	38.3
F2-PAP	1237.44 ± 305.20 ^z	46.26 ± 3.65 ^z	1.22 ± 0.08 ^y	48.2

^a PTL: Pisciculture des Trois Lacs; ^b PAP: Pisciculture André Paquette.

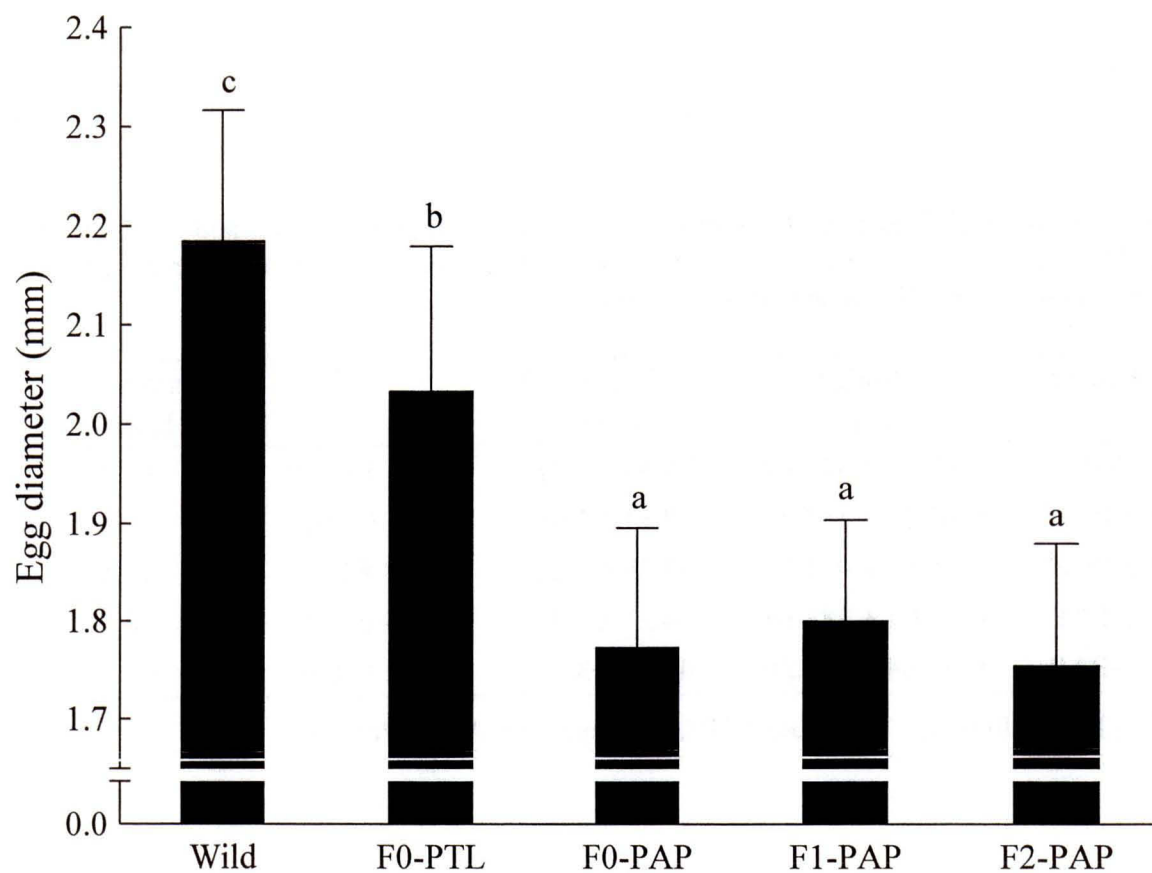


Figure 10. Egg diameter from wild, F0 (F0-PTL and F0-PAP), F1, and F2 walleye females. Data are presented as means \pm sd. Different letters indicate significantly different means ($\alpha=0.05$).

Table 3. Total lipid contents (mg/g dry mass) and lipid class composition (percentage of total lipids) (means \pm sd) in walleye eggs from wild, F0 (F0-PTL and F0-PAP), F1 and F2 females.

	Wild	F0-PTL ^a	F0-PAP ^b	F1-PAP	F2-PAP
Total lipids	231.2 \pm 43.7	246.6 \pm 35.9	164.4 \pm 35.3	169.8 \pm 50.5	177.8 \pm 14.2
<i>(mg/g dry weight)</i>					
Lipid classes					
<i>(percentage of total lipids)</i>					
Wax esters	41.0 \pm 3.9	39.1 \pm 3.1	36.3 \pm 3.5	43.1 \pm 6.3	37.6 \pm 1.5
Ketones	0.3 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	2.3 \pm 3.5	0.6 \pm 0.5	3.5 \pm 3.9
Triacylglycerols	33.1 \pm 6.3	42.1 \pm 7.0	36.7 \pm 4.9	32.7 \pm 10.4	34.2 \pm 5.0
Free fatty acids	0.1 \pm 0.3	0.1 \pm 0.2	0.0 \pm 0.1	0.1 \pm 0.2	0.0 \pm 0.1
Sterols	1.5 \pm 0.5	1.5 \pm 0.4	1.8 \pm 0.4	1.6 \pm 0.5	1.6 \pm 0.2
Acetone mobile polar lipids	1.9 \pm 0.5	1.6 \pm 0.6	1.6 \pm 0.5	1.0 \pm 0.2	1.6 \pm 0.4
Phospholipids	22.1 \pm 3.8	15.4 \pm 5.0	21.2 \pm 5.7	20.9 \pm 4.4	21.5 \pm 2.9

Numbers in bold indicate an origin effect.

^a PTL: Pisciculture des Trois Lacs; ^b PAP: Pisciculture André Paquette.

In each egg batch, polyunsaturated fatty acids (PUFA) were the largest fatty acid group in the neutral and polar lipid fractions, with docohexaenoic acid [22:6(n-3), DHA] being the largest component (neutral fraction: $26.5 \pm 5.7\%$, $F_{9,190} = 89.38$, $p < 0.001$; polar fraction: $44.9 \pm 8.4\%$, $F_{9,190} = 285.29$, $p < 0.001$). Eggs from wild females and first generation females from both fish farms (F0-PTL and F0-PAP) contained significantly more saturated fatty acids (SFA) in the neutral fraction, despite the different diets (Table 4; $F_{4,15} = 6.23$, $p = 0.004$), while there was no difference in the polar fraction content (Table 5; $F_{4,15} = 1.00$, $p = 0.436$). The n-3 precursor content, α -linolenic acid [18:3(n-3)], was higher in eggs from wild females for both neutral (Table 4; $F_{4,15} = 53.94$, $p < 0.001$) and polar (Table 5; $F_{4,15} = 41.45$, $p < 0.001$) fractions than in all other egg batches. In both fractions, AA [20:4(n-6)] content was higher in eggs from wild females than in those from domesticated females (neutral fraction: $F_{4,15} = 85.71$, $p < 0.001$; polar fraction: $F_{4,15} = 83.24$, $p < 0.001$). Moreover, in the neutral lipid fraction, DHA [22:6(n-3)] content was significantly higher in eggs from wild and reared females from PTL (Table 4; $F_{4,15} = 28.76$, $p < 0.001$). In this same fraction, the DHA / EPA ratio was the highest for the eggs from wild females (Table 4; $F_{4,15} = 26.54$, $p < 0.000$).

Table 4. Fatty acid composition (percentage of total fatty acid \pm sd) in neutral lipids of walleye eggs from wild, F0 (F0-PTL and F0-PAP), F1, and F2 females.

Fatty acid	Wild	F0-PTL ^a	F0-PAP ^b	F1-PAP	F2-PAP
14:0	4.0 \pm 0.2 ^{zy}	3.8 \pm 1.2 ^{zy}	5.1 \pm 1.1 ^y	3.1 \pm 0.3 ^z	2.7 \pm 0.3 ^z
16:0	13.5 \pm 0.6 ^y	14.4 \pm 1.5 ^{zy}	13.7 \pm 2.2 ^{zy}	12.7 \pm 0.8 ^{zy}	11.1 \pm 0.7 ^z
16:1(n-7)	24.2 \pm 1.0 ^x	25.5 \pm 2.5 ^{yx}	24.9 \pm 5.3 ^{zyx}	19.3 \pm 0.9 ^{yx}	18.8 \pm 1.0 ^z
18:1(n-9)	1.5 \pm 0.4 ^z	3.1 \pm 4.1 ^z	6.9 \pm 7.0 ^{zy}	13.8 \pm 4.8 ^{yx}	20.7 \pm 3.4 ^x
18:2(n-6)	0.8 \pm 0.7 ^z	5.5 \pm 4.9 ^{zy}	14.9 \pm 9.4 ^{zy}	13.8 \pm 3.1 ^y	10.8 \pm 1.5 ^y
18:3(n-3)	5.0 \pm 0.5 ^x	1.4 \pm 0.2 ^z	2.8 \pm 0.7 ^y	3.6 \pm 0.5 ^y	0.9 \pm 0.1 ^z
20:4(n-6)	3.3 \pm 0.1 ^x	0.9 \pm 0.1 ^y	0.4 \pm 0.1 ^z	2.2 \pm 0.6 ^{yx}	0.5 \pm 0.0 ^z
20:5(n-3)	7.8 \pm 0.2 ^y	10.2 \pm 0.9 ^x	6.4 \pm 1.6 ^{zyx}	6.8 \pm 0.4 ^z	6.9 \pm 0.4 ^{zy}
22:6(n-3)	33.8 \pm 1.0 ^x	31.2 \pm 1.9 ^x	21.1 \pm 4.0 ^{zy}	21.0 \pm 1.4 ^z	25.4 \pm 0.8 ^y
<i>Total</i>					
SFA	19.5 \pm 1.0 ^y	20.6 \pm 1.7 ^y	20.7 \pm 3.7 ^y	17.1 \pm 1.0 ^{zy}	14.9 \pm 0.9 ^z
MUFA	28.7 \pm 1.1 ^z	29.5 \pm 4.0 ^z	32.9 \pm 4.6 ^{zy}	34.3 \pm 4.2 ^{zy}	40.0 \pm 3.0 ^y
PUFA	51.8 \pm 1.9	49.9 \pm 3.8	46.5 \pm 5.5	48.5 \pm 3.4	45.1 \pm 2.2
(n-3)	47.0 \pm 1.3 ^y	42.9 \pm 2.8 ^{yx}	30.4 \pm 6.2 ^{zy}	31.7 \pm 2.2 ^z	33.2 \pm 1.4 ^z
(n-6)	4.8 \pm 0.7 ^z	7.0 \pm 4.8 ^{zy}	16.0 \pm 9.4 ^{zy}	16.8 \pm 2.8 ^y	11.8 \pm 1.5 ^y
(n-3)/(n-6)	9.9 \pm 1.2	10.3 \pm 9.9	2.8 \pm 2.3	1.9 \pm 0.3	2.9 \pm 0.4
PUFA/SFA	2.7 \pm 0.2	2.4 \pm 0.3	2.3 \pm 0.6	2.8 \pm 0.1	3.0 \pm 0.1
EPA/AA	2.4 \pm 0.1 ^z	11.1 \pm 0.3 ^y	17.3 \pm 4.2 ^y	3.2 \pm 0.8 ^z	13.8 \pm 0.8 ^y
DHA/EPA	4.3 \pm 0.1 ^x	3.1 \pm 0.2 ^z	3.3 \pm 0.3 ^{zy}	3.1 \pm 0.2 ^z	3.7 \pm 0.1 ^y
EPA/DHA	0.2 \pm 0.0 ^z	0.3 \pm 0.0 ^y	0.3 \pm 0.0 ^{yx}	0.3 \pm 0.0 ^x	0.3 \pm 0.0 ^{zy}

Note: Only fatty acids comprising 1% or more of total fatty acids in at least one group are listed. Numbers in bold indicate an origin effect. Different superscript letters indicate significant differences among groups ($\alpha = 0.05$).

^a PTL: Pisciculture des Trois Lacs; ^b PAP: Pisciculture André Paquette.

Table 5. Fatty acid composition (percentage of total fatty acid \pm sd) in polar lipids of walleye eggs from wild, reared (F0-PTL and F0-PAP) and domesticated (F2-PAP and F3-PAP) females. Only fatty acids comprising 1% or more of total fatty acids in at least one group are listed. Numbers in bold indicate an origin effect. Different superscript letters indicate significant differences among groups ($\alpha = 0.05$).

Fatty acid	Wild	F0-PTL	F0-PAP	F1-PAP	F2-PAP
14:0	3.3 \pm 0.2	3.1 \pm 1.1	3.9 \pm 2.4	2.4 \pm 0.1	1.9 \pm 0.8
16:0	21.9 \pm 0.4	22.4 \pm 1.7	27.8 \pm 15.0	19.2 \pm 0.8	20.2 \pm 1.2
16:1(n-7)	5.6 \pm 0.3	6.0 \pm 0.4	6.0 \pm 3.2	4.4 \pm 0.3	3.6 \pm 0.3
18:1(n-9)	0.3 \pm 0.1	1.1 \pm 1.5	3.9 \pm 2.7	4.6 \pm 3.4	4.1 \pm 2.1
18:2(n-6)	0.3 \pm 0.2 ^z	0.4 \pm 0.3 ^z	1.4 \pm 0.7 ^y	1.5 \pm 0.2 ^y	1.0 \pm 0.1 ^{zy}
18:3(n-3)	0.9 \pm 0.1 ^x	0.7 \pm 0.0 ^y	0.5 \pm 0.1 ^y	0.7 \pm 0.0 ^y	0.3 \pm 0.0 ^z
20:4(n-6)	6.2 \pm 0.0 ^x	2.2 \pm 0.4 ^z	1.5 \pm 0.5 ^z	5.0 \pm 0.7 ^y	2.2 \pm 0.2 ^z
20:5(n-3)	10.4 \pm 0.3 ^{zyx}	13.9 \pm 0.4 ^x	8.9 \pm 3.7 ^z	9.5 \pm 0.4 ^{zy}	12.9 \pm 0.9 ^{yx}
22:6(n-3)	45.0 \pm 0.8	43.9 \pm 1.9	39.9 \pm 19.2	46.9 \pm 3.2	48.7 \pm 2.1
<i>Total</i>					
SFA	29.6 \pm 0.6	30.3 \pm 2.3	36.2 \pm 19.3	25.6 \pm 0.2	25.6 \pm 1.4
MUFA	6.8 \pm 0.3	8.0 \pm 1.0	11.0 \pm 4.6	10.1 \pm 3.2	8.6 \pm 2.0
PUFA	63.6 \pm 0.6	61.7 \pm 2.3	52.8 \pm 23.3	64.3 \pm 3.2	65.8 \pm 2.6
(n-3)	56.6 \pm 0.5	58.5 \pm 2.2	49.4 \pm 22.8	57.2 \pm 3.5	62.1 \pm 2.7
(n-6)	6.9 \pm 0.2 ^y	3.1 \pm 0.2 ^z	3.2 \pm 1.1 ^z	6.9 \pm 0.6 ^y	3.6 \pm 0.1 ^z
(n-3)/(n-6)	8.2 \pm 0.3 ^z	18.8 \pm 0.9 ^y	15.4 \pm 7.3 ^{zy}	8.4 \pm 1.2 ^z	17.4 \pm 1.0 ^y
PUFA/SFA	2.2 \pm 0.1	2.0 \pm 0.2	1.9 \pm 1.1	2.5 \pm 0.1	2.6 \pm 0.2
EPA/AA	1.7 \pm 0.1 ^z	6.4 \pm 1.1 ^y	5.8 \pm 2.0 ^{zy}	1.9 \pm 0.4 ^z	5.8 \pm 0.2 ^y
DHA/EPA	4.3 \pm 0.2 ^{zy}	3.2 \pm 0.1 ^z	4.3 \pm 0.7 ^{xy}	4.9 \pm 0.2 ^x	3.8 \pm 0.2 ^{zy}
EPA/DHA	0.2 \pm 0.0 ^{zy}	0.3 \pm 0.0 ^x	0.2 \pm 0.0 ^{zy}	0.2 \pm 0.0 ^z	0.3 \pm 0.0 ^y

Numbers in bold indicate an origin effect.

^a PTL: Pisciculture des Trois Lacs; ^b PAP: Pisciculture André Paquette.

DISCUSSION

Walleye egg production in North America is still highly variable due to farmed egg quality and survival at hatch. To improve production, it is of great importance to understand how egg quality could be influenced by broodstock feeding and domestication.

Our results show that eggs from wild females were larger, had higher n-3 precursor and AA contents, and had much better survival rates at hatch than other egg batches. Different lipid class contents did not vary between eggs from wild, F0 (F0-PTL, F0-PAP), F1, and F2 domesticated females. Similar results were reported by Salze et al. (2005) in a study on wild and farmed cod (*Gadus morhua*) broodstock. In fish farms, because of the difficulty encountered to feed breeders with commercial feeds, producers use live prey as supplement which can impair improving breeder rearing conditions. On the other hand, Salze et al. (2005) suggested that egg lipid class composition is generally well conserved and little altered by diet compared to other fish tissues. We observed that the two main lipid classes were wax esters (WE) and triacylglycerols (TAG). It has been widely demonstrated that TAG is a common storage lipid, but the function of WE is uncertain. Like TAG, WE are thought to be involved in energy storage in crustaceans, fish, and marine mammals (Budge et al., 2006). Thus, energy storing lipids—WE and TAG—made up nearly 80% of the total lipid content of walleye eggs.

Total egg lipids were similar among eggs independent of the origin, even when egg size was not the same. This contrasts with what was reported in walleye by Moodie et al. (1989), who showed that larger eggs are normally characterized by larger yolks and oil globules and thus have higher nutritional reserves than smaller eggs. Another study on the same species by Czesny & Dabrowski (1998) found that wild populations had higher total lipids than the domesticated one. According to these authors, differences in lipid contents could be related to fish diet since their domesticated population was fed only with commercial diet. In our study, domesticated fish were fed a commercial diet supplemented

with small cyprinids and trout (except for F0-PAP), and this could then explain the similarity in the content of total lipids in eggs from different origins.

Neutral lipids are mainly used for energy metabolism (Wiegand et al., 2004) and so are used after hatch (Moodie et al., 1989). In our study, the major differences in neutral fatty acid profiles between eggs from wild and domesticated females were found with α -linolenic acid, AA, and DHA. All three were higher in eggs from wild females than in those from domesticated fish. A previous study comparing two wild populations of walleye and a domesticated one found similar results for these fatty acids (Czesny & Dabrowsky, 1998). On the contrary, polar lipid fatty acids are supposed to be used mostly during embryogenesis (before hatch) and play important roles in structure and as eicosanoid precursors (Wiegand et al., 2004). Like the neutral lipid fraction, α -linolenic acid and AA contents were higher in eggs from wild females than in those from domesticated fish. These differences in fatty acid content could be important for survival rates at hatch, since the hatch rate of eggs from wild females was three times higher than eggs from F0 (F0-PTL and F0-PAP) females. It seems interesting to note the plant origin of α -linolenic acid, as this fatty acid content is higher in eggs from wild females than in the ones from females maintained in captivity. Walleyes are carnivorous fish, thus the question remains where they acquired this fatty acid? DHA are incorporated into membrane phospholipids and involved in maintaining the structural and functional integrity of biological membranes, particularly in cold conditions (Hazel, 1995). This PUFA was also demonstrated to be important in maintaining membrane fluidity in cold conditions. In most animals including fish, AA is involved in the production of eicosanoids, a group of highly biologically active hormones such as prostaglandins and leukotrienes, and in the stress response (Howard & Stanley, 1999). Thus, the fatty acid profiles of wild eggs could suggest a better capacity to resist stress events and to acclimate to cold conditions.

Eggs from different generations of domesticated females from PAP were not significantly different from each other but were smaller than those from wild females. As previously discussed, this could be due to female size since wild females were longer and bigger. However, for the different generations of domesticated females, F1-PAP females

were longer and larger than those from F0-PAP and F2-PAP, but there was no difference in egg size. Lipid class contents remained stable over the domesticated generations, but, as previously suggested by Salze et al. (2005) for wild and farmed cod, egg lipid class composition could be conserved over generations. Our results on a freshwater species show a pattern of lipids class conservation between wild and domesticated eggs similar to the marine species studied by Salze et al. (2005). Fatty acid contents were quite similar over the different generations in PAP except for the content of α -linolenic acid, which was lower in eggs from F2-PAP females than in previous generations in both the neutral and polar fractions. Moreover, in the neutral fraction, eggs from F2-PAP females contained less SFA than those from other generations and tended to have more mono-unsaturated fatty acids (MUFA), but these small modifications on fatty acid contents do not seem to affect hatching success, since eggs from F2-PAP females had the highest survival rate of all eggs from domesticated females.

The diameter of eggs obtained from wild females was similar to previously reported values from wild females in different studies, such as that of Czesny et al. (2005), where egg diameters were between 1.85 and 2.38 mm for fish captured in the Salt Fork Reservoir in Ohio. Moreover, lipid analyses of eggs from wild females showed nearly 80% neutral lipids, which is more than 10% higher than what was found in a previous study on walleye eggs by Moodie et al. (1989). Indeed, in this latter study, storage lipids or neutral lipids represented only 67% of total lipids, with TAG being the most abundant neutral lipid class (55%). Our results on eggs from wild females showed neutral lipid levels similar (80%) to those reported by Czesny et al. (2005). In this neutral lipid fraction, PUFA were the most abundant fatty acids followed by MUFA and SFA, as already noticed in walleye eggs (Czesny & Dabrowski, 1998; Czesny et al., 2005). However, in the present study, eggs had much more PUFA, probably induced by a very high DHA content. Polar lipid content, mainly phospholipids (PL), accounted for nearly 20% of total lipids in all egg batches, as found by Czesny & Dabrowski (1998) in walleye eggs from different origins. In this polar lipid fraction, PUFA were again the most abundant fatty acids, representing more than 65% of total polar lipids in eggs, which is more than reported in previous studies (Czesny &

Dabrowski, 1998; Czesny et al., 2005). This higher PUFA content in eggs is likely due to higher EPA and DHA contents.

In our study, eggs from wild walleye females were larger (2.24 ± 0.18 mm) than those from F0 females in PTL (F0-PTL; 2.03 ± 0.15 mm) and PAP (F0-PAP; 1.77 ± 0.12 mm). A study on walleye by Johnston & Leggett (2002) suggested that egg size varied among populations and with respect to latitude, so the diameter variation among PTL and PAP batches could be due to the different brood fish origins. Moreover, differences in egg size between wild, F0-PTL, and F0-PAP could be related to dam size, since wild females were longer and bigger than the F0 fish. This relation (increasing egg size with maternal size) was previously reported for walleye in a study on multiple populations (Johnston & Leggett, 2002).

To conclude, eggs from northern wild females have some strong similarities to other populations described in previous studies. However, their PUFA content was higher, which is probably due to a higher DHA content. Total lipid contents in eggs from F0 females (F0-PTL and F0-PAP) seemed to be well conserved compared to eggs from wild females, which could probably be explained by the co-feeding (salmonid feed + fish). However, several important fatty acids were lower in eggs from short-term domesticated females, such as α -linolenic acid, AA, and DHA, and this could reflect the salmonid diets and the species used as co-feeding supplement (cyprinid and trout). Even if two generations of domestication did not modify egg size, total lipid contents, or lipid classes, the decrease of DHA and AA observed could lower resistance to stress and affect cold acclimation. More studies are needed to improve egg quality in terms of lipids content, but also on other possible essential components, like amino acids, to improve survival rates for farmed fish eggs. Moreover, feeding improvements for captive breeders are still needed to meet this species' requirements in terms of lipids and fatty acid contents.

CHAPITRE 2

COMMENT LA TEMPÉRATURE AFFECTE-T-ELLE L'UTILISATION DES ACIDES GRAS CHEZ DES EMBRYONS ET DES ALEVINS VÉSICULÉS D'OMBLE CHEVALIER

RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude était de tester comment la température affecte l'utilisation des acides gras chez des embryons et des alevins d'ombles chevalier. Neuf familles de type demi-frère ont été produites et chaque ponte fut divisée en deux groupes, chacun incubé sous un régime thermique différent : 1) conditions thermiques naturelles, variant de 7 °C à 3,5 °C (de décembre à février), puis augmentant graduellement jusqu'à 6,5 °C en mai ; 2) température constante à 6 °C. À l'éclosion, les différentes pontes ont été catégorisées selon leur taux d'éclosion : pas d'éclosion (NH), faible taux de survie à l'éclosion (LH) et taux de survie élevé à l'éclosion (HH). Les conditions thermiques n'ont pas eu d'effet sur l'utilisation des acides gras pendant le développement embryonnaire. Cependant, les œufs incubés à température naturelle possédaient non seulement un contenu en lipides totaux plus élevé mais les alevins étaient également plus longs, avec un facteur de condition plus faible, que ceux incubés à température constante. Les alevins du groupe HH ont démontré des profils en acides gras différents de ceux du groupe PH, indiquant que les acides gras étaient utilisés d'une manière différente entre les groupes pendant le développement embryonnaire, avec une consommation plus importante des MUFA de structure chez les embryons et les alevins du groupe HH que chez ceux du groupe PH. Bien que les conditions thermiques n'aient pas influencé la croissance pendant l'alimentation endogène, suggérant ainsi un effet de croissance compensatoire de l'éclosion à la fin de la résorption du sac vitellin, les

alevins élevés sous des conditions naturelles ont moins utilisé leurs phospholipides que ceux élevés à température constante.

Ce deuxième article, intitulé « How does temperature affect the use of fatty acids in Arctic charr embryos and yolk-sac fry? », fut corédigé par moi-même ainsi que par les professeurs Réjean Tremblay, Jonathan Gagnon, Sébastien Plante et Céline Audet. Il sera soumis durant l'hiver 2013 aux éditeurs de la revue *Journal of Fish Biology*. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la recherche sur l'effet de la température sur l'utilisation des acides gras, les analyses de laboratoire, le traitement des résultats et la rédaction de l'article. Le professeur Réjean Tremblay, second auteur, a aidé à la recherche sur l'utilisation des acides gras, aux méthodes d'analyses, à l'approche statistique, ainsi qu'à la révision de l'article. Jonathan Gagnon, troisième auteur a aidé au développement de la méthode d'analyse des acides gras, ainsi qu'à la révision de l'article. Sébastien plante, quatrième auteur, a aidé à la révision de l'article. Céline Audet, sixième auteur, a contribué à l'idée originale, a aidé à l'approche statistique, ainsi qu'à la révision de l'article. Une version abrégée de cet article a été présentée à la réunion annuelle du Réseau Aquaculture Québec, à Québec, à l'automne 2009, ainsi qu'à l'Association Canadienne d'Aquaculture, à St. Johns (Terre-Neuve), en mai 2010.

HOW DOES TEMPERATURE AFFECT THE USE OF FATTY ACIDS IN ARCTIC CHARR EMBRYOS AND YOLK-SAC FRY?

ABSTRACT

The objective of this study was to test how temperature affects the use of fatty acids in Arctic charr embryos and yolk-sac fry. Nine half-sib families were produced, and eggs from each spawning were divided in two groups, that were incubated under different temperature regimes: 1) natural temperature conditions, varying from 7°C to 3.5°C (from December to February) then gradually to 6.5°C in May; 2) a constant temperature of 6°C. At hatch, the different spawnings were assigned to one of three categories: no hatch (NH), low survival at hatch (LH), and high survival at hatch (HH). The temperature conditions had no effect on the use of fatty acids during embryonic development. However, eggs incubated under natural temperature conditions had a higher total lipid content and produced significantly longer fry with a lower condition factor than those incubated at the constant temperature. Fry from the LH and HH groups had different fatty acid profiles. This indicates that fatty acids were used differently during embryonic development, with a higher consumption of structural MUFA in HH embryos and fry than in LH (no significant difference at spawning). Even though temperature conditions did not influence growth during endogenous feeding, suggesting a compensatory growth effect from hatching to the end of the yolk stage, fry under natural conditions relied less on their phospholipids than those at the constant temperature.

Keywords: Arctic charr, egg quality, lipids, fatty acids, temperature effect, growth

INTRODUCTION

Most fish species do not provide parental care, so eggs must contain all the nutrients required for embryo development as well as growth and survival at the different developmental stages (Bromage et al., 1992; Kamler, 1992; Watanabe & Kiron, 1994; Brooks et al., 1997; Kamler, 2005). In Arctic and brook charr, embryos from small eggs develop faster than those from larger eggs and are smaller at hatch (Valdimarsson et al., 2002; Perry et al., 2005). In brook charr, both egg size and egg quality are strongly related to maternal influence until yolk sac resorption is complete, after which the maternal influence is progressively replaced by the fry's genetic contribution (Perry et al., 2004). In Arctic charr from the Fraser strain, egg energy content has been shown to be a better indicator of hatching success and fry growth than egg size (Atse et al., 2002).

Egg energy reserves are contained in the yolk and the oil globule (Wiegand, 1996; Kamler, 2005). In fish, the oil globule mainly contains storage reserves in the form of neutral lipids such as triacylglycerols and wax esters (e.g., Parrish, 1999; Kamler, 2008), while yolk contains high concentrations of proteins and polar lipids such as phospholipids (e.g., Henderson & Tocher, 1987; Wiegand, 1996). In Arctic charr, one study found triacylglycerols and phospholipids to be the two major constituents, representing more than 90% of the total lipids in eggs (Jobling et al., 1995). The presence of sufficient energy reserves is a requirement for successful hatching in eggs with long incubation times (Wiegand, 1996), and Arctic charr eggs are particularly rich in stored lipids (Pickova & Brännäs, 2006). Incubation time varies according to temperature conditions and the stock considered (Jobling et al., 1993; Delabbio, 1995). For example the Hammerfest strain requires about 440 degree-days (dd), the Sunndalsora strain 515 dd, and the Fraser strain about 420 dd for development from fertilization to hatch (Robbins et al., 1990; Stickney, 1991; Atse et al., 2002). Differences in essential fatty acid contents in eggs from wild and farmed fish have been suggested as a possible cause of low hatching success in farmed eggs (Pickova & Brännäs, 2006), but Mansour et al. (2011) showed that the fatty acid profile had

no effect on egg fertility or embryonic development in the Fraser strain of Arctic charr (Mansour et al., 2011).

Water temperature may also influence egg viability (Brooks et al., 1997). Temperature conditions have marked effects on yolk-feeding fry and directly affect embryo development (Brooks et al., 1997), yolk utilization rate (Kamler, 2002), and growth (Moyle & Cech, 2004). In Arctic charr, optimal temperatures for egg incubation range from 2°C to 7°C until the eyed stage and from 10°C to 12°C later on (Johnston, 2002). However, Janhunen et al. (2010) found that a constant 7°C temperature during egg incubation could be detrimental in terms of survival at hatch and fry size compared to a constant temperature of 2°C. The lipid and fatty acid composition of eggs can be modified by temperature conditions in freshwater fishes (Henderson & Tocher, 1987). Thus the objective of this study was to investigate how temperature conditions influence the use of fatty acids during early developmental stages of Arctic charr.

MATERIALS AND METHODS

Fish rearing and sampling

In fall 2008, nine half-sib families were produced using nine Fraser strain Arctic charr females and three males from the broodstock maintained at the Institut des Sciences de la Mer de Rimouski (ISMER). Brood fish were reared under natural temperature (8 to 16°C from May to August then decreasing to 6°C until November) and photoperiod conditions and fed daily to satiety using Corey Broodstock feed. Each spawning was divided in two batches: one that was exposed to a constant temperature (6°C \pm 1°C), that was monitored daily, during embryonic development and after hatching, and the other that was maintained under natural temperature conditions, i.e., from 7°C in December to 3.5°C at the beginning of incubation until hatching (March), and then a gradual increase to 6.5°C until yolk-sac resorption in May. Weight and length of each dam are presented in Table 6.

Condition factor (K) and gonadosomatic index (GSI) were calculated using the following equations:

$$K = (W \times 100) / L^3$$

$$GSI = (LW / W) \times 100$$

where W represents the total weight in grams before spawning, L the length in centimetres, and LW the eggs weight in grams.

Table 6. Weight, length, condition factor (K), and gonadosomatic index (GSI) of females used for each cross-type, and weight, and number of eggs of each spawning.

Female	Male	Cross-type	♀ Weight (g)	♀ Length (cm)	♀ K	♀ GSI	Gonad weight (g)	Number of eggs
1	1	F1M1	600.0	44.4	0.69	27.3	163.5	2093
2	1	F2M1	800.0	40.5	1.20	20.2	161.3	1840
3	1	F3M1	1000.0	44.5	1.13	18.4	183.5	2735
4	1	F4M1	800.0	41.3	1.14	25.4	203.3	1810
5	2	F5M2	1400.0	48.3	1.24	16.7	233.2	2202
6	2	F6M2	1100.0	44.1	1.28	12.1	133.5	1629
7	2	F7M2	1050.0	44.7	1.18	19.4	203.8	1702
8	3	F8M3	700.0	37.8	1.30	20.0	139.8	1454
9	3	F9M3	600.0	38.8	1.03	20.3	121.8	1286

At spawning, the diameter of 10 eggs per spawning batch were measured using a binocular microscope. Two aliquots containing three eggs each were frozen at -80°C for later lipid analyses. Mortality surveys were determined on day 1 and twice a week until the end of the experiment. Survival rates at 100 degree-days (dd), at the eyed stage, at hatch, and at the yolk-sac resorption stage were calculated for each egg batch. At hatch and at the yolk-sac resorption stage, 10 fry per family and per treatment were measured and weighed

and 10 others were frozen at -80°C for later lipid analysis. For all variables, values obtained within each family were averaged. These means were used in the final data set, with family being the statistical unit.

Biological analyses

Lipid analyses were performed on two egg pools, each containing three eggs per female and on three pools of two fry per female at hatch and at the yolk-sac resorption stage. Lipids were extracted in dichloromethane–methanol according to Parrish (1999) using the modified Folch procedure (Folch et al., 1957). For lipid class determination, a $3\mu\text{L}$ aliquot of each extract was spotted onto chromarods coated with silica gel (S-III, Iatron Laboratories, Tokyo, Japan). Lipid classes were separated using three solvent systems according to Parrish (1999), and classes were then determined by thin layer chromatography with flame ionization detection (TLC-FID) using an Iatroscan MK-6s (Iatron Laboratories, Tokyo, Japan) as described in Parrish (1987). Chromatograms of wax esters (WE), ketones (KET), triacylglycerols (TAG), free fatty acids (FFA), free sterols (ST), acetone-mobile polar lipids (AMPL), and phospholipids (PL) were quantified using the PeakSimple software (v3.29, SRI Inc., Torrance, CA, USA).

Aliquots of $250\mu\text{g}$ of lipid extracts were separated into neutral (NL) and polar (PL) lipids using column chromatography with 100 mg of silica gel hydrated with 6% water as described by Marty et al. (1992). Each fraction was dried and fatty acid methyl esters (FAMES) prepared using 2% H_2SO_4 in methanol at 100°C . Neutral lipids were purified from sterol using column chromatography with 100 mg of silica gel with hexane and diethylether (5%). FAMES were analyzed using a GC-MS (Trace GC Ultra – ITQ 900, Thermo Scientific) equipped with an OmegawaxTM 250 fused silica capillary column ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\mu\text{m}$ film thickness; Supelco, PA, USA). Helium was used as the carrier gas at a constant flow of 1 mL/min . The injector temperature was 250°C , and $1\mu\text{L}$ of each sample was injected in splitless mode. Oven temperature was initially held for 2 min at 100°C followed by two temperature ramps: $10^{\circ}\text{C} / \text{min}$ to 140°C (4 min) and $5^{\circ}\text{C} / \text{min}$ to

270°C (26 min). FAMES were identified using commercial standards from 37 Component FAME Mix (Supelco, Bellefonte, PA, USA). The methyl ester of nonadecanoic acid (19:0) purchased from Sigma-Aldrich Canada Ltd (Oakville, Ontario) was used as internal standard. Xcalibur software (version 2.1.0.1140, Thermo Fisher Scientific Inc.) was used to analyze chromatograms.

Data analysis

Data normality was tested using the Kolmogorov-Smirnov test and homoscedasticity was checked with the Brown and Forsythe test (Quinn & Keough, 2005). For all the different analyses, data were assigned to three groups depending on egg survival (Table 7): 1) spawnings that did not reach hatch (NH), 2) spawnings with less than 50% survival at hatch (LH), and 3) spawnings with more than 50% survival at hatch (HH). Survival rates at 100 dd, at the eyed stage, at hatch, and at the yolk-sac resorption stage were analyzed using two-way ANOVAs [hatching success group (G) and temperature (T)]. Egg diameter, each egg lipid class, and fatty acid contents were analyzed with one-way ANOVA to test for group effect. Each lipid class, fry fatty acid content, and fry growth (length, weight, and condition factor) were analyzed using three-way ANOVAs [developmental stage (S), G, and T] to test for temperature and group effects. When relevant, a posteriori analyses were performed using Tukey tests; Games and Howell tests were used when transformations failed to provide homoscedasticity. Statistical analysis were performed using Statistica version 7.0 for Windows (Statsoft Tulsa, OK, USA) with a significance level of $\alpha = 0.05$. Games and Howell tests were performed using SPSS version 18.0 for Windows (IBM SPSS, Armonk, New York, USA).

Table 7. Survival rate at 100 degree-days (dd), at the eyed stage, at hatch, and at the yolk-sac resorption stage under natural (Nat T°) and constant (Const T°) temperatures for eggs that did not hatch (NH), that showed low hatching success (< 50%; LH), and that showed high hatching success (> 50%; HH). The group effect was significant at all stages except 100 dd.

Cross-type	Group	100dd		Eyed stage		Hatch		Yolk sac resorption	
		Nat T°	Const T°	Nat T°	Const T°	Nat T°	Const T°	Nat T°	Const T°
F1M1	NH	64.9	61.4	24.2	28.3	-	-	-	-
F2M1	NH	96.4	98.7	-	-	-	-	-	-
F3M1	NH	55.6	64.5	26.4	20.5	-	-	-	-
F4M1	LH	71.5	86.6	65.6	46.5	10.8	1.6	8.8	0.7
F5M2	LH	86.9	84.7	41.8	34.1	13.9	27.8	0.6	15.9
F6M2	LH	94.5	94.5	72.8	72.4	8.9	18.6	1.4	14.9
F7M2	HH	97.5	96.8	87.5	93.2	71.1	76.2	62.1	70.2
F8M3	HH	96.6	98.5	79.8	79.8	55.6	56.9	49.6	49.2
F9M3	NH	98.6	99.1	5.4	20.7	-	-	-	-

-: no survival

RESULTS

Unfertilized egg and dam characteristics

Egg diameters from the HH group were significantly larger than those from the NH and LH groups ($F_{2,87} = 16.85$, $p < 0.001$) (Figure 11). We found no difference among groups for the total lipid content in unfertilized eggs (mg lipids per g dry weight; $F_{2,6} = 0.05$, $p = 0.95$), or in the TAG/ST ratio ($F_{2,6} = 0.02$, $p = 0.98$). TAG and PL were the most abundant lipid classes in unfertilized eggs, while KET and FFA were minor components (Table 8). Total fatty acid content was the highest in eggs from the HH group.

The fatty acid composition (% of total lipids) differed among groups (Tables 9 and 10). In the neutral and polar lipid fractions, the eicosenoic acid (20:1n-9) content was significantly higher in eggs from the HH group than in those from the NH group (neutral fraction: $F_{2,6} = 6.86$, $p = 0.0282$; polar fraction: $F_{2,6} = 8.38$, $p = 0.0183$). In the polar fraction, eggs from the HH group had an eicosadienoic acid (20:2n-6) content more than three times ($1.87 \pm 0.48\%$) higher than that of NH eggs (Table 10). For the neutral lipid fraction, poly-unsaturated fatty acids (PUFA) were higher in NH and LH eggs, where they were the largest group of fatty acids, while mono-unsaturated fatty acids (MUFA) were higher and the most abundant in HH eggs. For the polar fraction, the PUFA were the most abundant fatty acids in all groups.

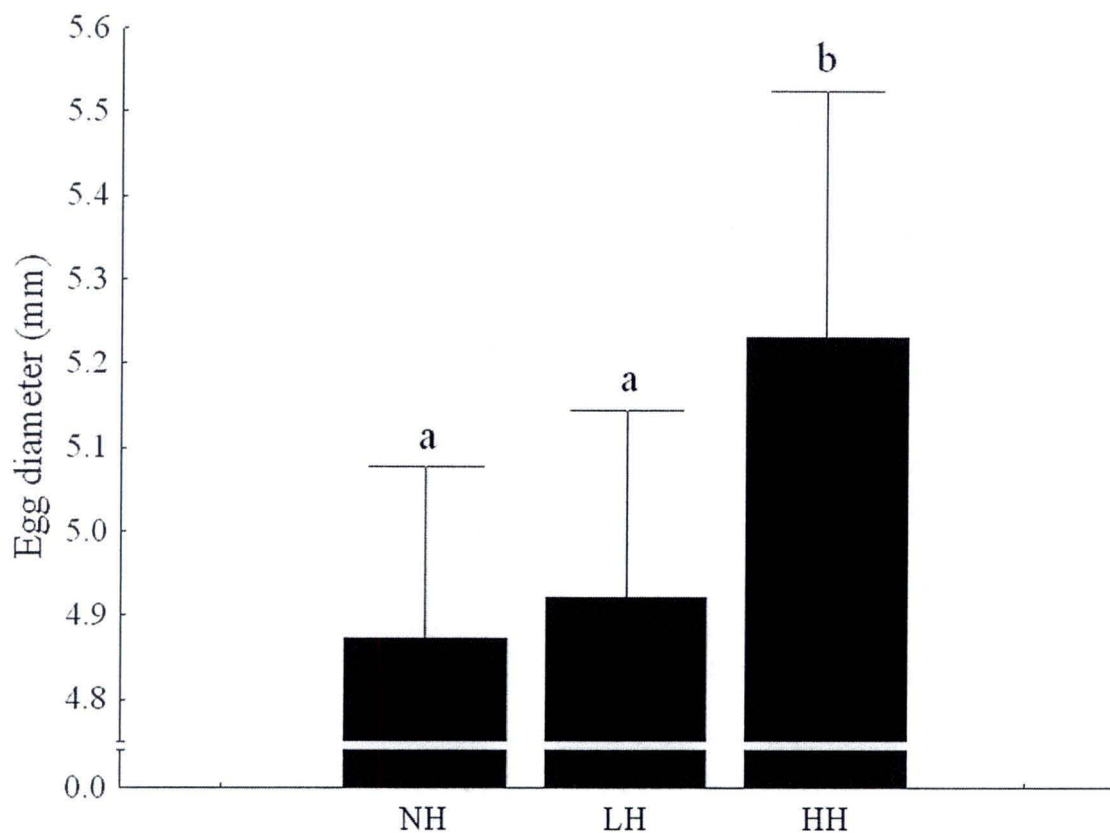


Figure 11. Egg diameter at spawning of Arctic charr eggs that did not reach the yolk-sac resorption stage (NH), that showed low hatching success (< 50%; LH), and that showed high hatching success (> 50%; HH). Data are presented as means \pm sd. Different letters indicate significantly different means ($\alpha=0.05$).

Table 8. Lipid classes (means \pm sd) of Arctic charr eggs that did not reach the yolk-sac resorption stage (NH), that showed low hatching success ($< 50\%$; LH), and that showed high hatching success ($> 50\%$; HH).

	NH	LH	HH
Total lipids (mg/g dry weight)	163.3 \pm 46.4	171.4 \pm 21.4	164.8 \pm 3.5
Lipid classes (percentage of total lipids)			
Ketones	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.0
Triacylglycerols	51.7 \pm 6.6	54.1 \pm 0.7	48.0 \pm 3.9
Free fatty acids	0.2 \pm 0.2	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.2
Sterols	3.2 \pm 0.7	3.4 \pm 0.6	3.1 \pm 0.9
Acetone mobile polar lipids	0.4 \pm 0.3	0.3 \pm 0.2	0.2 \pm 0.0
Phospholipids	44.5 \pm 5.6	42.0 \pm 0.4	48.5 \pm 2.8
TAG/ST	16.9 \pm 5.6	16.2 \pm 3.0	16.3 \pm 36.8

Group comparisons were made using one-way ANOVA, $p > 0.05$ for all comparisons.

Table 9. Selected fatty acid contents (percentage of total fatty acid \pm sd) in neutral lipids of Arctic charr eggs that did not reach yolk-sac resorption stage (NH), that showed low hatching success ($< 50\%$; LH), and that showed high hatching success ($> 50\%$; HH).

Fatty acid	NH	LH	HH	$F_{2,6}$	p
14:0	2.0 ± 0.5	2.1 ± 0.2	1.3 ± 0.1	2.75	> 0.05
16:0	16.4 ± 6.0	14.5 ± 5.3	9.4 ± 0.4	1.21	> 0.05
18:0	0.5 ± 0.6	0.7 ± 0.8	1.7 ± 0.1	2.94	> 0.05
16:1n-7	17.6 ± 6.8	16.1 ± 5.7	9.9 ± 0.9	1.22	> 0.05
18:1n-9	15.5 ± 16.0	22.1 ± 18.7	40.5 ± 2.5	1.71	> 0.05
20:1n-9	0.2 ± 0.2^a	0.6 ± 0.4^{ab}	1.1 ± 0.1^b	6.86	0.03
18:2n-6	9.9 ± 8.3	10.1 ± 5.3	13.3 ± 0.8	0.20	> 0.05
20:2n-6	0.4 ± 0.4	0.3 ± 0.3	1.1 ± 0.3	4.17	> 0.05
18:3n-3	0.9 ± 0.3	0.7 ± 0.3	0.6 ± 0.0	0.96	> 0.05
18:3n-6	2.1 ± 0.6	1.6 ± 0.4	0.9 ± 0.3	4.04	> 0.05
20:3n-6	3.2 ± 1.4	2.4 ± 0.6	1.2 ± 0.2	2.50	> 0.05
20:4n-6	2.3 ± 0.5	2.3 ± 1.4	1.9 ± 0.1	0.19	> 0.05
20:5n-3	7.8 ± 2.6	6.4 ± 2.5	5.0 ± 0.9	0.94	> 0.05
22:6n-3	18.0 ± 5.1	16.6 ± 8.7	10.0 ± 1.3	1.15	> 0.05
<i>Total</i>					
SFA	21.6 ± 6.7	20.3 ± 5.3	14.1 ± 0.5	1.24	> 0.05
MUFA	33.8 ± 10.1	39.2 ± 13.2	51.7 ± 1.6	1.96	> 0.05
PUFA	44.7 ± 4.8	40.5 ± 8.1	34.2 ± 1.2	2.19	> 0.05
n-3	26.8 ± 7.9	23.7 ± 11.4	15.8 ± 2.1	1.08	> 0.05
n-6	17.5 ± 6.3	16.4 ± 3.6	17.3 ± 0.6	0.05	> 0.05
n-3/n-6	1.8 ± 1.1	1.6 ± 1.2	0.9 ± 0.2	0.51	> 0.05
PUFA/SFA	2.2 ± 0.6	2.0 ± 0.2	2.4 ± 0.0	0.58	> 0.05
EPA/AA	3.3 ± 1.0	3.3 ± 1.4	2.7 ± 0.3	0.27	> 0.05
DHA/EPA	2.3 ± 0.3	2.5 ± 0.3	2.0 ± 0.1	2.26	> 0.05
EPA/DHA	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1	0.5 ± 0.0	2.98	> 0.05
Fatty acids (mg/g)	468.7 ± 137.9^a	483.9 ± 166.9^a	990.4 ± 144.5^b	8.65	0.02

Note: Only fatty acids comprising 1% or more of total fatty acids are listed. Different superscript letters indicate significant differences among groups ($\alpha = 0.05$).

Table 10. Selected fatty acid contents (percentage of total fatty acid \pm sd) in polar lipids of Arctic charr eggs that did not reach yolk-sac resorption stage (NH), that showed low hatching success ($< 50\%$; LH), and that showed high hatching success ($> 50\%$; HH).

Fatty acid	NH	LH	HH	F _{2,6}	<i>p</i>
14:0	0.7 \pm 0.2	0.7 \pm 0.2	0.5 \pm 0.0	1.36	> 0.05
16:0	22.3 \pm 4.4	19.6 \pm 3.7	16.2 \pm 1.3	1.78	> 0.05
18:0	2.0 \pm 2.7	3.7 \pm 5.2	8.2 \pm 1.5	1.97	> 0.05
16:1n-7	2.4 \pm 0.4	2.5 \pm 0.2	1.9 \pm 0.5	1.75	> 0.05
18:1n-9	8.2 \pm 8.5	10.8 \pm 11.1	18.2 \pm 1.4	0.88	> 0.05
20:1n-9	0.3 \pm 0.3 ^a	0.7 \pm 0.9 ^{ab}	2.5 \pm 0.8 ^b	8.38	0.02
18:2n-6	2.3 \pm 1.9	2.5 \pm 1.2	3.1 \pm 0.0	0.18	> 0.05
20:2n-6	0.5 \pm 0.5 ^a	0.5 \pm 0.5 ^a	1.9 \pm 0.5 ^b	5.43	0.045
18:3n-3	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0	0.05	> 0.05
18:3n-6	0.3 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0	1.82	> 0.05
20:3n-6	2.6 \pm 0.7	3.4 \pm 1.6	1.3 \pm 0.0	2.23	> 0.05
20:4n-6	6.5 \pm 0.7	6.5 \pm 2.7	5.8 \pm 0.4	0.14	> 0.05
20:5n-3	10.4 \pm 2.5	9.8 \pm 0.5	7.3 \pm 0.2	2.11	> 0.05
22:6n-3	39.2 \pm 5.6	36.9 \pm 12.3	31.4 \pm 0.2	0.63	> 0.05
<i>Total</i>					
SFA	27.0 \pm 2.7	25.7 \pm 1.7	26.2 \pm 0.2	0.31	> 0.05
MUFA	11.1 \pm 8.5	14.2 \pm 11.0	22.7 \pm 1.0	1.21	> 0.05
PUFA	62.0 \pm 7.0	60.1 \pm 12.2	51.0 \pm 0.9	1.12	> 0.05
n-3	49.8 \pm 8.0	46.9 \pm 18.8	38.8 \pm 0.0	0.94	> 0.05
n-6	11.6 \pm 1.4	12.6 \pm 1.3	10.3 \pm 0.2	2.13	> 0.05
n-3/n-6	4.4 \pm 1.0	3.8 \pm 1.2	3.8 \pm 0.2	0.40	> 0.05
PUFA/SFA	2.3 \pm 0.3	2.4 \pm 0.6	2.0 \pm 0.0	0.78	> 0.05
EPA/AA	1.6 \pm 0.5	1.7 \pm 0.8	1.3 \pm 0.1	0.45	> 0.05
DHA/EPA	3.8 \pm 0.4	3.7 \pm 1.1	4.3 \pm 0.2	0.48	> 0.05
EPA/DHA	0.3 \pm 0.0	0.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0	0.54	> 0.05
Fatty acids (mg/g)	591.7 \pm 89.5 ^a	681.1 \pm 154.3 ^a	1146.3 \pm 72.4 ^b	14.60	0.01

Note: Only fatty acids comprising 1% or more of total fatty acids are listed. Different superscript letters indicate significant differences among groups ($\alpha = 0.05$).

Dams from the different groups were not significantly different in terms of weight ($F_{2,6} = 1.80, p = 0.25$), length ($F_{2,6} = 0.67, p = 0.55$), condition factor ($F_{2,6} = 1.72, p = 0.25$), and gonadosomatic index ($F_{2,6} = 0.45, p = 0.66$). Moreover, the gonad weight ($F_{2,6} = 0.58, p = 0.59$) and the number of eggs per spawning ($F_{2,6} = 0.53, p = 0.62$) were similar among groups (Table 6).

Embryonic stages

Temperature had no effect on survival at either the eyed stage or at hatch (eyed stage: $F_{2,12} = 0.38, p = 0.69$; hatch: $F_{2,12} = 0.19, p = 0.83$) (Table 7). At the eyed stage, survival rate was significantly higher in the HH group compared to the LH and NH groups ($F_{2,13} = 35.24, p < 0.001$; Table 7). At the constant temperature, fry from the HH and LH groups had similar weights ($F_{1,48} = 0.39, p = 0.54$; Figure 12) while fry from the LH group were heavier than fry from the HH group under natural temperature conditions ($F_{1,96} = 13.17, p < 0.001$; Figure 12). Size (group: $F_{1,96} = 0.42, p = 0.52$; $T \times G$: $F_{1,96} = 0.05, p = 0.82$) and condition factor (group: $F_{1,96} = 0.05, p = 0.83$; $T \times G$: $F_{1,96} = 0.70, p = 0.40$) were not different between the LH and HH groups. Nevertheless, temperature influenced embryonic growth: at hatch, fry from eggs incubated under natural temperature conditions (fewer degree days) were longer (temperature: $F_{1,98} = 27.85, p < 0.001$; Figure 13A) and had lower condition factor (temperature: $F_{1,98} = 30.28, p < 0.001$; Figure 13B) than those incubated at the constant temperature.

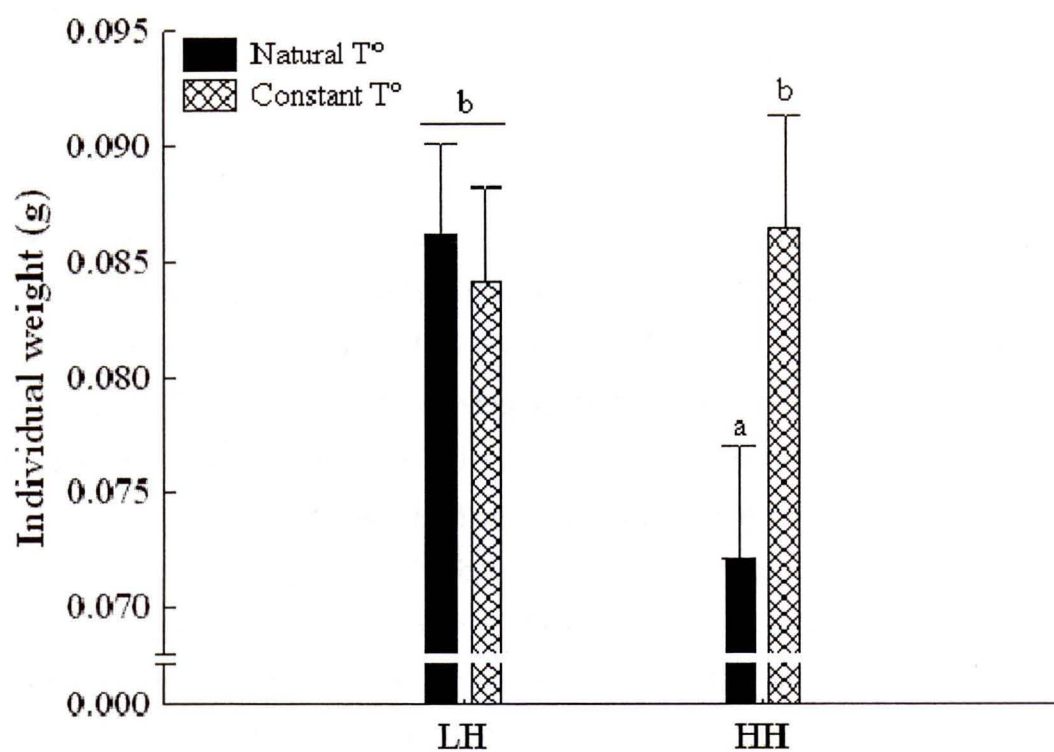


Figure 12. Weight (means \pm sd) of fry reared under natural or constant temperatures until hatch for groups that showed low (LH) and high (HH) hatching success. Different letters indicate significantly different means ($\alpha=0.05$).

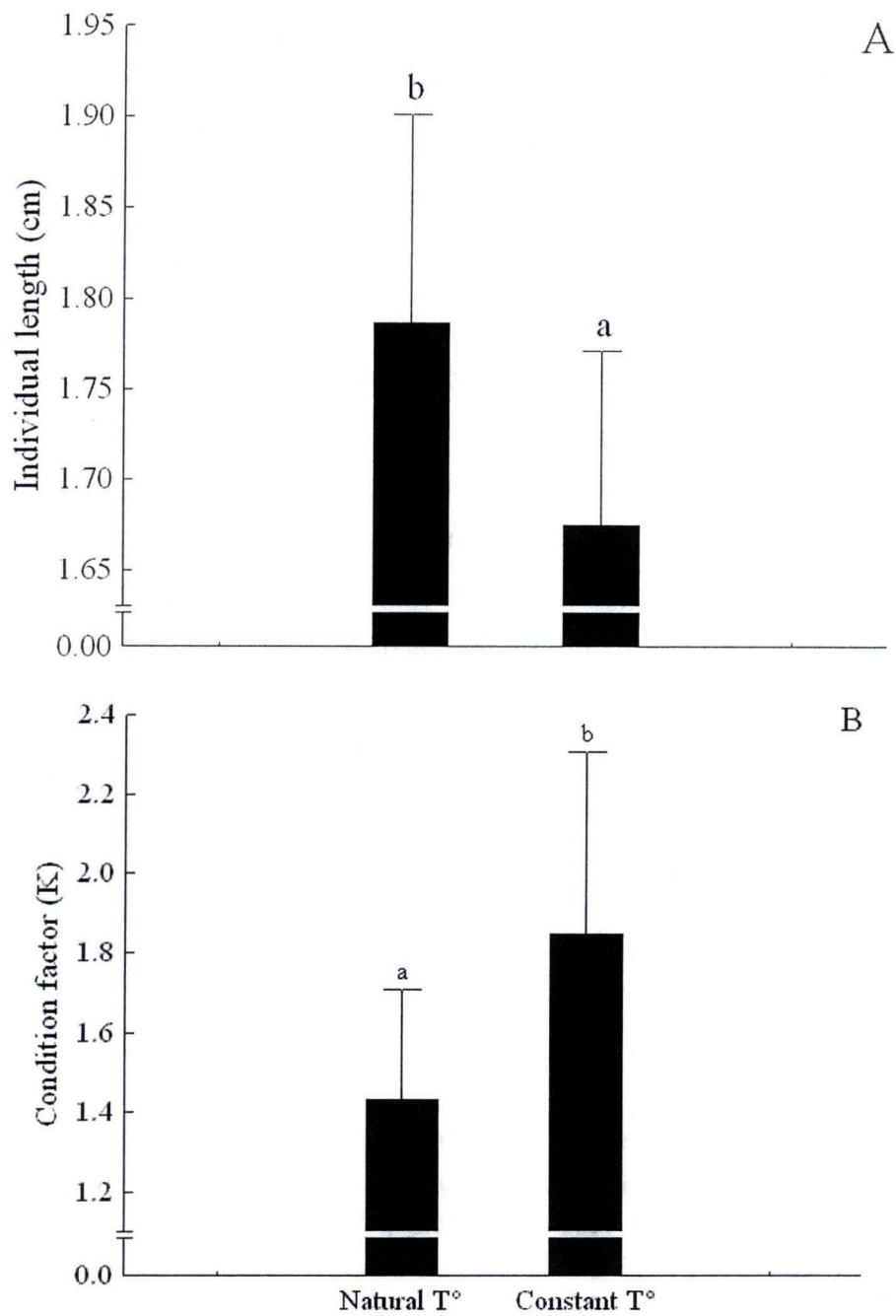


Figure 13. Length (A) and condition factor (B) for fry reared under natural or constant temperatures until hatch. Data are presented as means \pm sd. Different letters indicate significantly different means ($\alpha=0.05$).

Lipid content differed according to the incubation temperature. At hatch, fry reared under natural conditions had a higher lipid content ($F_{1,28} = 13.44$, $p = 0.0010$), but lower amounts of ST ($F_{1,28} = 4.97$, $p = 0.0340$) and AMPL ($F_{1,28} = 5.44$, $p = 0.0271$) than fry from eggs incubated at the constant temperature (Table 11). However temperature had no effect on TAG/ST ratios (temperature: $F_{1,26} = 2.20$, $p = 0.15$; $T \times G$: $F_{1,26} = 0.16$, $p = 0.69$).

Temperature had no effect on the use of fatty acids by embryos (temperature: $p > 0.05$; $T \times G$: $p > 0.05$). Fry from the HH group from both temperature conditions had higher 20:4n-6, 20:5n-3, and 20:2n-6 contents than those from the LH group. Conversely, fry from the LH group had higher 18:1n-9 and 20:3n-6 contents. PUFA content was higher in HH fry compared to MUFA, which were more abundant in LH fry (Table 12). For the polar fraction, HH fry had higher SFA and 16:0 contents than the LH group but significantly lower amounts of 18:3n-6, 20:5n-3, and 20:3n-6 (Table 13).

Table 11. Lipid classes (means \pm sd) of Arctic charr fry at hatch and at yolk-sac resorption, reared under natural or constant temperatures.

	Hatch		Yolk sac resorption	
	Natural T°	Constant T°	Natural T°	Constant T°
Total lipids (mg/g dry weight)	221.3 \pm 27.0 ^b	180.2 \pm 34.0 ^a	219.8 \pm 26.6	217.1 \pm 38.9
Lipid classes (percentage of total lipids)				
Wax ester	0.4 \pm 0.2	0.7 \pm 0.4	0.6 \pm 0.2	1.2 \pm 1.0
Ketones	0.3 \pm 0.2	0.4 \pm 0.2	0.4 \pm 0.1	0.7 \pm 0.5
Triacylglycerols	31.8 \pm 5.6	26.8 \pm 7.4	30.9 \pm 7.7	35.5 \pm 8.0
Free fatty acids	2.4 \pm 1.4	1.9 \pm 1.5	2.7 \pm 1.5	2.1 \pm 1.8
Sterols	7.5 \pm 1.2 ^a	9.1 \pm 2.5 ^b	8.7 \pm 1.6	10.3 \pm 3.3
Acetone mobile polar lipids	7.6 \pm 5.1 ^a	12.0 \pm 5.4 ^b	9.3 \pm 4.6	9.2 \pm 5.8
Phospholipids	50.0 \pm 4.4	49.1 \pm 5.3	47.3 \pm 3.1 ^b	41.0 \pm 6.9 ^a
TAG/ST	4.5 \pm 1.3	3.3 \pm 1.2	4.2 \pm 1.4	3.5 \pm 3.1

Different superscript letters indicate significant differences among groups ($\alpha = 0.05$).

Table 12. Selected fatty acid contents (% of total fatty acid \pm sd) in neutral lipids at hatch and at the yolk-sac resorption stage of Arctic charr fry that showed low (< 50%; LH) and high (> 50%; HH) hatching success.

Fatty acid	Hatch				Yolk-sac resorption			
	LH	HH	F _{1,28}	p	LH	HH	F _{1,28}	p
14:0	1.5 \pm 0.4	1.4 \pm 0.1	0.32	> 0.05	1.5 \pm 0.3	1.3 \pm 0.1	2.79	> 0.05
16:0	9.3 \pm 0.5	9.6 \pm 0.7	2.34	> 0.05	8.9 \pm 0.9	8.9 \pm 0.4	0.00	> 0.05
18:0	2.5 \pm 0.4	2.4 \pm 0.2	2.22	> 0.05	3.0 \pm 0.5	2.8 \pm 0.3	1.79	> 0.05
16:1n-7	9.7 \pm 0.5	9.6 \pm 1.0	0.15	> 0.05	9.0 \pm 0.5	8.6 \pm 1.3	0.78	> 0.05
18:1n-9	40.8 \pm 0.7 ^b	39.1 \pm 1.4 ^a	17.28	< 0.001	42.5 \pm 2.3 ^b	40.1 \pm 2.0 ^a	7.59	0.01
20:1n-9	1.9 \pm 0.6	1.6 \pm 0.2	3.50	> 0.05	3.0 \pm 1.1 ^b	2.2 \pm 0.4 ^a	5.62	0.03
18:2n-6	10.2 \pm 0.8	10.9 \pm 3.5	0.57	> 0.05	8.4 \pm 3.8	10.4 \pm 3.3	1.98	> 0.05
20:2n-6	1.1 \pm 0.2 ^a	1.3 \pm 0.1 ^b	9.30	0.01	1.3 \pm 0.2 ^a	1.5 \pm 0.2 ^b	6.81	0.02
18:3n-6	1.3 \pm 0.6	1.0 \pm 0.2	2.07	> 0.05	1.3 \pm 0.5	1.1 \pm 0.2	0.83	> 0.05
20:3n-6	1.8 \pm 0.7 ^b	1.2 \pm 0.1 ^a	9.13	0.01	2.2 \pm 0.8 ^b	1.4 \pm 0.1 ^a	10.08	0.004
20:4n-6	3.4 \pm 0.7 ^a	4.3 \pm 0.2 ^b	18.39	< 0.001	4.1 \pm 0.8 ^a	5.2 \pm 0.3 ^b	22.72	< 0.001
20:5n-3	4.3 \pm 0.3 ^a	5.1 \pm 0.5 ^b	33.98	< 0.001	4.0 \pm 0.4 ^a	4.8 \pm 0.5 ^b	19.36	< 0.001
22:6n-3	10.9 \pm 1.5	11.0 \pm 0.8	0.01	> 0.05	9.4 \pm 1.9	10.0 \pm 1.4	0.65	> 0.05
<i>Total</i>								
SFA	13.5 \pm 1.0	13.6 \pm 0.9	0.07	> 0.05	13.7 \pm 1.5	13.3 \pm 0.6	0.79	> 0.05
MUFA	52.8 \pm 1.1 ^b	50.7 \pm 1.8 ^a	16.91	< 0.001	55.0 \pm 3.0 ^b	51.5 \pm 2.6 ^a	9.51	0.005
PUFA	33.6 \pm 1.3 ^a	35.7 \pm 2.2 ^b	10.26	0.003	31.4 \pm 3.6 ^a	35.2 \pm 2.9 ^b	8.43	0.008
n-3	15.8 \pm 1.5	16.9 \pm 1.3	4.21	0.05	14.1 \pm 2.1	15.5 \pm 1.9	4.23	> 0.05
n-6	16.7 \pm 0.4	17.4 \pm 3.3	0.92	> 0.05	15.8 \pm 3.8	18.1 \pm 3.2	2.56	> 0.05
n-3/n-6	1.0 \pm 0.1	1.1 \pm 0.6	0.76	> 0.05	1.0 \pm 0.5	0.9 \pm 0.4	0.26	> 0.05
PUFA/SFA	2.5 \pm 0.3	2.6 \pm 0.3	1.76	> 0.05	2.3 \pm 0.4 ^a	2.7 \pm 0.3 ^b	5.04	0.03
EPA/AA	1.3 \pm 0.4	1.2 \pm 0.1	1.88	> 0.05	1.0 \pm 0.3	0.9 \pm 0.1	1.85	> 0.05
DHA/EPA	2.6 \pm 0.4 ^b	2.2 \pm 0.1 ^a	14.74	< 0.001	2.4 \pm 0.4	2.1 \pm 0.2	3.76	> 0.05
EPA/DHA	0.4 \pm 0.1 ^a	0.5 \pm 0.0 ^b	17.36	< 0.001	0.4 \pm 0.1	0.5 \pm 0.1	2.62	> 0.05
Fatty acids (mg/g)	409.8 \pm 95.2	344.5 \pm 77.2	3.91	> 0.05	361.2 \pm 65.9	379.2 \pm 63.3	0.56	> 0.05

Note: Only fatty acids comprising 1% or more of total fatty acids are listed. Fatty acids in bold characters indicate a significant sampling (development stage) effect. Different superscript letters indicate significant differences among groups ($\alpha = 0.05$).

Table 13. Selected fatty acid contents (percentage of total fatty acid \pm sd) in polar lipids at hatch and at the yolk-sac resorption stage of Arctic charr fry that showed low (< 50%; LH) and high (> 50%; HH) hatching success.

Fatty acid	Hatch				Yolk-sac resorption			
	LH	HH	F _{1,28}	<i>p</i>	LH	HH	F _{1,24}	<i>p</i>
14:0	0.6 \pm 0.2	0.7 \pm 0.0	0.37	> 0.05	0.6 \pm 0.1	0.5 \pm 0.0	0.54	> 0.05
16:0	15.5 \pm 0.7 ^a	16.7 \pm 0.8 ^b	17.02	< 0.001	17.3 \pm 0.8	17.2 \pm 0.4	0.17	> 0.05
18:0	6.7 \pm 1.3	6.8 \pm 0.8	0.09	> 0.05	6.2 \pm 0.9	6.1 \pm 0.5	0.07	> 0.05
16:1n-7	2.0 \pm 0.3	1.9 \pm 0.3	0.47	> 0.05	1.8 \pm 0.2	1.7 \pm 0.3	1.32	> 0.05
18:1n-9	19.3 \pm 1.2	18.9 \pm 1.3	0.97	> 0.05	17.4 \pm 1.0	16.6 \pm 1.1	3.61	> 0.05
20:1n-9	3.0 \pm 1.0	2.7 \pm 0.1	1.00	> 0.05	2.5 \pm 0.8 ^b	1.9 \pm 0.1 ^a	5.49	0.03
18:2n-6	3.1 \pm 0.3	2.8 \pm 0.9	2.18	> 0.05	2.8 \pm 0.2	2.7 \pm 0.1	0.70	> 0.05
20:2n-6	1.3 \pm 0.3	1.5 \pm 0.5	2.10	> 0.05	1.1 \pm 0.2 ^a	1.3 \pm 0.1 ^b	7.53	0.01
18:3n-6	0.3 \pm 0.1 ^b	0.2 \pm 0.0 ^a	6.02	0.02	0.3 \pm 0.1 ^b	0.3 \pm 0.1 ^a	6.07	0.02
20:3n-6	2.6 \pm 1.4 ^b	1.2 \pm 0.0 ^a	11.77	0.002	2.2 \pm 1.1 ^b	1.1 \pm 0.0 ^a	12.12	0.002
20:4n-6	9.7 \pm 2.0	11.0 \pm 1.6	3.80	> 0.05	10.2 \pm 1.6 ^a	11.6 \pm 1.0 ^b	7.26	0.01
20:5n-3	7.1 \pm 1.0 ^b	6.0 \pm 1.9 ^a	4.17	0.05	6.5 \pm 0.9	6.3 \pm 0.2	0.98	> 0.05
22:6n-3	28.0 \pm 3.1	28.8 \pm 1.3	0.76	> 0.05	30.3 \pm 2.4 ^a	31.9 \pm 0.6 ^b	4.79	0.04
<i>Total</i>								
SFA	23.1 \pm 1.8 ^a	24.4 \pm 1.2 ^b	5.07	0.03	24.4 \pm 1.3	24.2 \pm 0.8	0.17	> 0.05
MUFA	24.6 \pm 1.5	23.7 \pm 1.6	2.38	> 0.05	21.9 \pm 1.2 ^b	20.4 \pm 1.4 ^a	8.87	0.007
PUFA	52.4 \pm 3.0	51.9 \pm 2.1	0.21	> 0.05	53.7 \pm 2.1 ^a	55.3 \pm 1.0 ^b	6.35	0.02
n-3	35.3 \pm 2.5	35.1 \pm 1.3	0.07	> 0.05	37.2 \pm 2.0 ^a	38.4 \pm 0.7 ^b	4.30	0.049
n-6	15.7 \pm 1.0	15.3 \pm 1.3	1.23	> 0.05	15.5 \pm 0.8	15.7 \pm 1.0	0.27	> 0.05
n-3/n-6	2.3 \pm 0.2	2.3 \pm 0.2	0.70	> 0.05	2.4 \pm 0.2	2.5 \pm 0.2	0.60	> 0.05
PUFA/SFA	2.3 \pm 0.3	2.1 \pm 0.2	3.10	> 0.05	2.2 \pm 0.2	2.3 \pm 0.1	1.58	> 0.05
EPA/AA	0.8 \pm 0.3 ^b	0.6 \pm 0.2 ^a	5.21	0.03	0.7 \pm 0.2	0.5 \pm 0.1	3.78	> 0.05
DHA/EPA	4.1 \pm 0.9	4.4 \pm 0.1	1.20	> 0.05	4.7 \pm 0.9	5.1 \pm 0.1	1.82	> 0.05
EPA/DHA	0.3 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	4.22	0.05	0.2 \pm 0.0	0.2 \pm 0.0	2.89	> 0.05
Fatty acids (mg/g)	361.1 \pm 65.9	379.2 \pm 63.3	0.56	> 0.05	292.8 \pm 47.0	314.4 \pm 86.1	0.65	> 0.05

Note: Only fatty acids comprising 1% or more of total fatty acids are listed. Fatty acids in bold characters indicate a significant sampling (development stage) effect. Different superscript letters indicate significant differences among groups ($\alpha = 0.05$).

Yolk-sac resorption stage

At the yolk-sac resorption stage, fry from the HH group had a higher survival rate independent of rearing temperature (temperature: $F_{1,12} = 1.32$, $p = 0.27$; $T \times G$: $F_{2,12} = 0.51$, $p = 0.61$) (Table 7). Interestingly, growth was not influenced by rearing temperature conditions (length: $F_{1,96} = 0.03$, $p = 0.86$; weight: $F_{1,96} = 0.06$, $p = 0.80$; condition factor: $F_{1,96} = 0.15$, $p = 0.70$). Indeed, the only detected temperature effect was a higher PL content in fry reared under natural conditions than in those reared at the constant temperature (temperature; $F_{1,24} = 9.14$, $p = 0.0059$) (Table 11). Fry from the HH group had higher contents of the neutral lipids 20:4n-6, 20:5n-3, and 20:2n-6 at the yolk-sac resorption stage while the LH group had higher 18:1n-9, 20:1n-9, and 20:3n-6 contents (Table 12). In the polar fraction, 20:4n-6 was higher in HH fry (Table 13). In both the neutral and polar fractions, HH fry had higher PUFA content while LH fry had higher MUFA contents (Tables 12, 13).

DISCUSSION

The objective of this work was to investigate how temperature conditions influence the use of fatty acids in early developmental stages of Arctic charr. Different temperature conditions had no effect on the fatty acid composition of fry, but some PUFA, such as arachidonic acid (20:4n-6, AA) and eicosapentaenoic acid (20:5n-3, EPA) in storage lipids (neutral fraction), were higher in fish that exhibited higher survival rates (HH) at both hatch and yolk-sac resorption. Both AA and EPA are known to have important physiological roles: AA is a precursor of eicosanoids (such as prostaglandins, leukotrienes, and hydroxyeicosatetraenoic acids) (Howard & Stanley, 1999) and EPA is a component in the maintenance of the structural and functional integrity of biological membranes (Hazel, 1995; Hulbert & Else, 1999). Even though the importance of fatty acids during fish development is well known (Sargent, 1995), the degree of importance in survival remains unclear. For example, Czesny & Dabrowsky (1998) found that polyunsaturated fatty acids

(PUFA) are correlated with survival in walleye while Johnston et al. (2007) found that the fatty acid composition only had a minor influence on hatching success in the same species. In our study, fish from the LH group had a higher MUFA content than those from the HH group, which could mean that fish with lower survival rates had a lower capacity to preferentially use MUFA instead of PUFA as a substrate for catabolism. Indeed, the PUFA content was lower in the LH group than in the HH group.

We found that incubation temperature had no effect on egg viability and survival rates from 100 dd until the yolk-sac resorption; this differs from previous observations in salmonids (reviewed by Pankhurst & King, 2010) and even in Arctic charr (Jahnunen et al., 2010). Jahnunen et al. (2010) used different constant temperature treatments (2°C or 7°C) while we used varying natural conditions and a constant 6°C exposure. Fluctuating temperature conditions are closer to conditions in the wild, while a constant temperature could be beneficial for growth if step temperatures are used to reach the optimum temperature, as demonstrated in Arctic charr (Gunnarsson et al., 2011). However, in the same species, Jahnunen et al. (2010) observed a decrease in survival in eggs incubated at 7°C compared to 2°C. Differences between these last two studies could be strain-specific. The absence of differential fatty acid incorporation in cellular membranes (polar fraction) could suggest that for the two temperature treatments, no membrane fluidity adjustment (Hazel, 1984; 1995) was necessary to compensate for such small temperature variations in this species.

At spawning, the total lipid content (in mg per g tissue) and lipid composition of eggs were not related to survival differences among the three groups (NH, LH, and HH). However, eggs from the HH group were larger, and this means that they contained higher nutritional reserves than the smaller ones, as observed by the higher total fatty acid contents. While both dam size (Perry et al., 2004) and age (e.g., Kamler, 2005) have been found to affect egg size, we observed no size difference among dams and all were the same age, so we eliminated the potential effects of these factors. The relationship between egg size and survival remains controversial in Arctic charr, with contradictory results reported

(Wallace & Aasjord, 1984b; Jónsson & Svavarsson, 2000). These could be related to genetic differences among strains.

The highest content of eicosenoic acid (20:1n-9) in both the neutral and polar fractions in the HH group cannot explain the differences in hatching success; Mansour et al. (2011) found levels similar to those of our HH group in poor-quality eggs. Very few studies have examined the role of this fatty acid in fish. Two studies on cod and rainbow trout that focused on the phospholipid composition of muscle, liver, retina, and brain found that 20:1n-9 is not common in structural phospholipids (Bell & Tocher, 1989; Bell & Dick, 1991). However, a study on capelin found that there was a strong selection for this fatty acid in maturing females (in contrast to another long-chain monoene, 22:1n-11, which is present in the same amount in muscle but almost absent in the ovary) for its mobilization from muscle for deposit in the ovary (Henderson et al., 1984), suggesting an important role in egg composition, probably for embryonic development. However, we should emphasize that this fatty acid only represent 0.5 to 3% of total fatty acids.

The lack of other differences in fatty acid composition between the different egg batches at spawning contrasts with what has been published on the importance of fatty acid contents in different fish species (Kjørsvik et al., 1990; Sargent, 1995; Pickova et al., 1997; Czesny & Dabrowsky, 1998), where PUFA were demonstrated to be of importance in egg viability and embryonic survival. In these studies, the PUFA contents of the neutral fraction did not exceed 30% of the total fatty acids, while we found that PUFA represented more than 34% in each egg batch. Mansour et al., (2011) found results for egg fatty acid contents that were similar to ours, with no difference between high, medium, or low fertility eggs, and with PUFA content also largely exceeding 30% of the total fatty acids.

Other sources of variation should also be considered to explain the different survival rates. Indeed carbohydrates are known to be important in unfertilized eggs and during early embryonic development because they are small molecules and thus preferentially used at these development stages (Turner, 1979; Mommsen & Walsh, 1988). This has been demonstrated for red drum (*Sciaenops ocellata*; Vetter et al., 1983), turbot (*Scophthalmus*

maximus; Finn et al., 1996), and whitefish (*Coregonus* spp.; Lahnsteiner, 2005). Proteins and free amino acids may also affect survival in these early development stages (Brooks et al., 1997; Kamler, 2008).

Rearing temperature seemed to have a greater control over fry growth than initial egg composition, but its effect was only present at hatch: the growth difference was no longer present at yolk-sac resorption. The absence of a temperature effect on length or weight at the yolk-sac resorption stage could be related to compensatory effects (Podolsky & Moran, 2006). These authors suggested that conditions experienced at one life history stage may or may not influence traits or processes at subsequent stages and described three scenarios: *persistence*, when a carry-over effect persists over time; *amplification*, when it is augmented; and *compensation*, when it is alleviated by compensatory effects. A high constant incubation temperature (6°C) could have accelerated (i.e. amplification) the time of hatch, resulting in smaller fish at hatch. Moreover, as suggested by Kamler (2008), the reduced growth in fish reared under a temperature higher than their optimal range could probably be explained by higher metabolic costs and a decreased ability to convert yolk to body tissues. Indeed, in the natural environment, Arctic charr eggs incubate in waters between 0.5 and 2°C, and time until hatch can be as long as six months (Johnson, 1980).

At hatch, fry reared under natural temperature condition had higher total lipid contents than those reared at 6°C, which could be explained by a higher consumption of lipids in fish reared at the higher temperature. Moreover, these same fish (reared at 6°C) had higher contents of sterol and AMPL but no difference in TAG/ST ratios, which could be due to highly variable TAG contents observed in fish from the same group. The different ST contents could be related to an increase of membrane rigidity in fish reared at the higher temperature (6°C). Indeed, Crockett (1998) reported that it is common to observe a cholesterol increase in cell membranes of ectotherms where it plays an important role for membrane homeoviscous adaptation (Sinensky, 1974). During the yolk-sac resorption, temperature conditions affected only the phospholipid contents of fry, with higher contents in fish reared at natural temperature than in those reared at the higher temperature.

In conclusion, we found that the temperature condition had no effect on the use of fatty acids during embryonic development, or on egg viability, but large eggs had a higher lipid content and higher survival rates. Moreover some interesting avenues could be further investigated regarding the importance of 20:1n-9 fatty acid on egg viability in early development stages. Eggs incubated under natural temperature conditions produced significantly longer fry with higher total lipid content than those incubated at a constant temperature. After hatch, fry from the HH group showed a different fatty acid profile than those from the LH group, indicating that fatty acids were used in different ways during embryonic development, with a higher consumption of MUFA in HH embryos and fry than in LH. However, temperature effects on growth were no longer present at the end of the yolk-sac stage, indicating a compensatory growth effect early in development.

CHAPITRE 3

L'EFFET DES PROTÉINES ET DES LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LA CROISSANCE D'OMBLES CHEVALIER (*SALVELINUS ALPINUS*) DE L'ANNÉE

RÉSUMÉ

L'alimentation assurant une croissance optimale varie en fonction des stades de développement, chacun ayant des besoins nutritionnels spécifiques. L'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*), en tant qu'espèce d'eau froide, possède des besoins spécifiques variables en fonction du stade considéré, allant de la première alimentation jusqu'au stade reproducteur. L'objectif de cette étude était de vérifier l'effet des contenus en protéines et en lipides de la moulée sur la croissance et l'accumulation de réserves énergétiques chez des ombles chevalier de l'année (0⁺). Les alevins ont été nourris pendant trois mois soit avec des moulées artisanales caractérisées par des contenus en protéines (47 à 63 %) et en lipides (13 à 24 %) différents soit avec une moulée commerciale. Les résultats obtenus démontrent que les lipides alimentaires n'affectaient pas la croissance. Cependant, malgré une augmentation du contenu énergétique et de l'index hepatosomatique lorsque le contenu lipidique de la moulée était élevé, la croissance n'a pas été modifiée, indiquant que ces surplus énergétiques n'ont pas été convertis en croissance. Les poissons nourris avec des moulées au contenu en protéines élevé avaient une bien meilleure croissance.

Ce troisième article, intitulé « *The effect of dietary proteins and lipids on growth of young-of-the-year Arctic charr (Salvelinus alpinus)* », fut corédigé par moi-même ainsi que par les professeurs Céline Audet et Sébastien Plante. Il sera soumis durant l'hiver 2013 aux éditeurs de la revue *Aquaculture Nutrition*. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la recherche sur les protéines et les lipides dans l'alimentation des

poissons, les analyses de laboratoire, le traitement des résultats et la rédaction de l'article. La professeure Céline Audet, second auteur, a aidé à l'approche statistique, au traitement des données, ainsi qu'à la révision de l'article. Le professeur Sébastien Plante, troisième auteur, a contribué à l'idée originale, a aidé aux méthodes d'analyse, au traitement des données, ainsi qu'à la révision de l'article. Une version abrégée de cet article a été présentée à l'*Association Canadienne d'Aquaculture*, à Charlottetown, au printemps 2012.

**THE EFFECT OF DIETARY PROTEINS AND LIPIDS ON GROWTH OF YOUNG-OF-THE-YEAR
ARCTIC CHARR (*SALVELINUS ALPINUS*)**

ABSTRACT

Feed ensuring optimal growth can vary with developmental stage because of different nutritional requirements. As a cold-water species, Arctic charr have specific requirements versus other salmonids, from first-feeding to on-growing stages. The objective of this study was to verify how the dietary protein–lipid ratio affects growth and energy storage in young-of-the-year Arctic charr. Some fry were fed diets that we prepared that were characterized by different protein (47 to 63%) and lipid (13 to 24%) contents while others were fed a commercial diet for a period of three months. While high concentrations of dietary lipids led to increases in HSI and fish energy content, this energy was not converted into growth. Fish fed diets with the higher protein contents had the best growth.

Keywords: Arctic charr, nutrition, proteins, lipids, energy content

INTRODUCTION

Meeting nutritional needs is a key requirement in animal production. In fish production, the feed must contain adequate proportions of both macronutrients (proteins, lipids, and carbohydrates) and micronutrients (vitamins, minerals, and carotenoid pigments) to ensure optimal growth (Johnston, 2002), but it is not uncommon to favour a group of nutrients at the expense of another (e.g., a more energetic or high-fat diet) to get a more efficient growth rate. Such a strategy does not take into account specific requirements for either the targeted species or the developmental stage requirements (see Olsen & Henderson, 1997) despite the importance these two factors in animal nutrition (Gurure et al., 2007; Alam et al., 2009).

In fish, dietary proteins are a major energy source for metabolic functions and also the source of amino acids needed for protein synthesis (Johnston, 2002; Conceição et al., 2003). However, inappropriate dietary protein intake will decrease or inhibit growth and induce a loss in weight if too much protein is supplied (Wilson, 2002). In Arctic charr (*Salvelinus alpinus*), dietary protein requirements were reported to be between 37% and 54% of nutritional intake, depending on age and strain considered (Tye, 1997), with protein requirements decreasing with age (Tabachek, 1984; De Silva & Anderson, 1995). In Arctic charr fry (mean weight 2.56 g), Gurure et al. (1995) suggested that the dietary protein level should represent at least 50%. In aquaculture feed production, fishmeal is the primary protein source because it contains well-balanced essential amino and fatty acids, energy, and minerals (Hertrampf & Piedad-Pascual, 2000) while supporting growth in carnivorous fish (Watanabe, 2002). Amino acid composition is of great importance due to their important physiological roles. A study on juvenile channel catfish showed the importance of arginine in optimizing protein utilization for growth and also in the development of the immune system, especially in relation to phagocyte function (Pohlenz et al., 2012). Other studies have demonstrated that inadequate dietary lysine availability limits protein synthesis and deposition and impairs growth (Conceição et al., 2003; Abimorad et al., 2009; Rathore et al., 2010; De Vareilles et al., 2012).

Dietary lipids such as fat, phospholipids, and fatty acids are mainly used for energy storage and as cellular membrane components (Higgs & Dong, 2000). Many fish species require polyunsaturated fatty acids (PUFA) in their diet to ensure growth and development (see Turchini et al., 2009). Polyunsaturated fatty acids are involved in biochemical, cellular, and physiological functions, and are also eicosanoic precursors (Sargent et al., 1999). Moreover, several studies have shown that dietary lipids have a sparing action on dietary proteins: increased dietary lipids increased the proportion of proteins retained (Takeuchi et al., 1978; Clarke & Higgs, 1984). In the fish aquaculture industry, marine fish oil has traditionally been the only lipid source used, due to its high level of n-3 unsaturated fatty acids.

Arctic charr is a coldwater species (Johnson, 1980) that has specific dietary requirements, especially in terms of lipids (Olsen et al., 1991; Tocher et al., 2001). A study on juveniles showed that their quantitative requirements for essential fatty acids, especially (n-3) PUFA, may be higher than those of other salmonids (1% more PUFA than commonly used commercial diets; Olsen et al., 1991). According to Tabachek & de March (1991), the ideal diet for on-growing Nayuk strain Arctic charr should contain 54% proteins and 20% lipids (which corresponds to a protein–lipid ratio of 2.7) to maximize weight gain and growth. However, little is known about the first-feeding requirements of this species or for the Fraser strain; it has been suggested that the Nayuk strain has a higher protein requirement than other strains (see Johnston, 2002). It is not clear whether the use of salmon (high protein – low lipid) or trout (low protein – high lipid) feeds for Arctic charr grow-out is more beneficial. Thus the objectives of this study were to verify how dietary protein and lipids affect growth and energy storage in young-of-the-year Arctic charr and how energy is affecting growth relative to dietary macronutrient contents.

MATERIALS AND METHODS

Fish rearing

In fall 2008, three male and five female Fraser strain Arctic charr from the broodstock maintained at the Institut des Sciences de la Mer à Rimouski (ISMER) were used to produce five spawnings that were reared under natural photoperiod and temperature conditions. Following yolk sac resorption, fry were fed Corey Optimum feed (Corey Feed Mills Ltd.). When they reached 1 g (approximately 760 degree-days after hatching), fry were randomly distributed in thirty 15.5 L fibreglass troughs (100 fish per trough) containing aerated dechlorinated running freshwater and under natural photoperiod and temperature. Fish were fed five different diets (six replicates per diet) until apparent satiation five times per day (which corresponded to about 5% of the wet weight per day).

Experimental diets and fish sampling

Two protein levels (47.2 and 63.6% of dry basis) and two lipid levels (13.4 and 24.6% of dry basis) were tested in four groups of fish. Thus four experimental diets were formulated: 1) low protein and low lipid content (LPLL), 2) low protein and high lipid content (LPHL), 3) high protein and high lipid content (HPHL), 4) high protein and low lipid content (HPLL). A fifth group of fish was maintained on the commercial diet (Corey Optimum, Corey Feed Mills Ltd.) and used as a reference group. Coarse ingredients of the experimental diets ($> 800 \mu\text{m}$) were finely ground using a Laboratory Mill (model 3100 Perten Instruments, Huddinge, Sweden) to ensure a homogeneous mix. Dry ingredients were mixed for 15 min in a 20 L meat mixer (Cabela's Inc.). Warm water ($\sim 70^{\circ}\text{C}$) was then added and thoroughly mixed in. This mixture was then extruded through a 3.5 mm die by a commercial grade grinder (Cabela's Inc.) and dried in a convection oven at 90°C until moisture was about 10%. Dry feeds were then manually crushed and sieved to obtain feed between 1.0 and 1.4 mm. Feeds were sealed in airtight packages and kept at -20°C until used.

The experiment lasted three months. The first sampling was done at the start of the experiment (T_0) and the three others at monthly intervals. At each sampling time, 25 fish per replicate, for a total of 150 per diet group, were sampled for length, weight, and

condition factor. In addition, three fish per replicate (total of 18 per diet group) were quickly killed and individually frozen at -80°C for further energy content analysis and three others (total of 18 per diet group) were dissected for liver weight measurements. Condition factor (K) and hepatosomatic index (HSI) were calculated. Condition factor was calculated using the following formula:

$$K = (W \times 100) / L^3$$

where W represents the total weight in g and L the length in cm. The hepatosomatic index was calculated as:

$$HSI = 100 \times (W_L / W)$$

where W_L represents the liver weight in g.

Analytical procedures

The proximate compositions of the diets are displayed in Table 14. Moisture and ash contents were determined using AOAC methods (AOAC, 2012). Total nitrogen was measured using a macro analyzer (model vario MACRO N, Elementar, Hanau, Germany) and the nitrogen value was converted to crude proteins ($N \times 6.25$). Lipid content was determined according to Folch *et al.* (1957). Gross energy content was measured in an adiabatic bomb calorimeter (model 6200, Parr Instrument Company, Illinois, USA) with benzoic acid (26.453 MJ/kg) as a standard. To measure fish energy content, whole frozen fish were first dried at 65°C until a constant weight was obtained and then crushed. All analyses were done in duplicate. The theoretical amino and fatty acid contents were calculated using the amount of each amino and fatty acid in each diet component (Table 15). Analyses were carried out at the Coastal Zone Research Institut (IRZC) in Shippagan, New Brunswick.

Table 14. Feed formulations of the four experimental diets (LPLL: low protein – low lipid; LPHL: low protein – high lipid; HPHL: high protein – high lipid; HPLL: high protein – low lipid) and their compositions.

	Diet				
	LPLL	LPHL	HPHL	HPLL	Commercial ⁱ
<i>Ingredients (g/100g)</i>					
Herring fishmeal (75.9% CP) ^a	22.00	27.00	76.62	54.00	
Corn gluten meal (63.8% CP) ^b	23.74	19.62	5.00	28.14	
Soybean meal (45.3% CP) ^c	24.00	19.00	1.00	3.48	
Whey powder (16.7% CP) ^d	18.50	12.00	1.00	5.00	
Herring oil ^a	9.38	20.00	14.00	7.00	
Salmon vitamin/mineral premix ^e	2.00	2.00	2.00	2.00	
Choline chloride 99% ^f	0.30	0.30	0.30	0.30	
Vitamin C-3 ^g	0.08	0.08	0.08	0.08	
<i>Chemical analysis (dry basis)</i>					
Crude protein (g/100g)	48.1	47.2	63.6	63.3	59.0
Lipid (g/100g)	13.4	24.6	22.5	13.8	17.0
Carbohydrates (g/100g) ^h	32.4	22.5	4.1	14.9	14.1
Ash (g/100g)	6.1	5.2	9.8	8.0	9.9
Energy (MJ /kg)	22.2	24.6	24.3	23.0	21.5

^a Produits du Golfe du St-Laurent Ltd (Caraquet, NB, Canada)

^b COOP Atlantique (Caraquet, NB, Canada)

^c Northeast Nutrition Inc. (Truro, NS, Canada)

^d Saputo Inc. (Montréal, QC, Canada)

^e Corey Feed Mills Ltd (Fredericton, NB, Canada)

^f Acros Organics (Morris Plains, NJ, USA)

^g Argent Chemical Laboratories Inc. (Redmond, WA, USA)

^h Calculated as 100–(crude protein+lipid+ash)

ⁱ Determined by manufacturer

Table 15. Amino acid and essential fatty acid compositions of the four experimental diets (LPLL: low protein – low lipid; LPHL: low protein – high lipid; HPHL: high protein – high lipid; HPLL: high protein – low lipid) and the nutrient requirements of juveniles Arctic charr.

	Diet				Nutrient requirements
	LPLL	LPHL	HPHL	HPLL	(g/100 g, as fed) ^a
<i>Amino acids (g/100g)</i>					
Arginine	3.24	3.23	5.38	4.64	2.40
Histidine	1.23	1.16	1.59	1.59	0.90
Isoleucine	2.18	2.07	2.85	2.88	1.20
Leucine	5.46	4.98	5.31	7.02	2.60
Lysine	1.70	1.71	3.02	2.44	3.40
Methionine	1.22	1.21	1.98	1.92	1.10
Phenylalanine	2.50	2.29	2.51	3.10	1.80
Threonine	1.97	1.89	2.81	2.72	1.90
Tryptophan	0.05	0.06	0.13	0.10	—
Valine	2.58	2.49	3.70	3.61	1.60
<i>Fatty acids (g/100g)</i>					
20:4n-6 (ARA)	0.01	0.01	0.02	0.02	
20:5n-3 (EPA)	0.91	1.78	1.71	0.98	
22:6n-3 (DHA)	1.78	3.57	3.16	1.76	

^a According to Gurure et al. (2007), estimated for Labrador strain Arctic charr 0⁺ fingerlings (20-35g).

Data analysis

Data normality was tested using the Kolmogorov-Smirnov (K-S) test and homoscedasticity was checked with the Brown and Forsythe test (Quinn & Keough, 2005). All data (length, weight, K, HSI, and energy content) were analyzed using two-way ANOVAs to test for the effects of diet and sampling time using tank replicates as the statistical unit. Protein and lipid effects at the end of the experiment on growth (length and weight), condition indices (K and HSI), and energy content were analyzed using two-way ANOVAs (protein \times lipid). When relevant, Tukey HSD *a posteriori* analyses were performed. ANOVAs were carried out using Statistica version 7.0 for Windows (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA) with a significance level of $\alpha = 0.05$ and Games and Howell using SPSS version 18.0 for Windows (IBM SPSS, Armonk, New York, USA).

RESULTS

During all the experiment, protein content had a significant effect on length, weight, condition factor, and hepatosomatic index, while lipid content effect was significant only for energy content (Table 16). At the beginning of the experiment (T_0), fish fed the five different diets were similar in size (Figure 14A, 4.6 ± 0.2 cm; $F_{4,25} = 0.36$, $p = 0.838$), weight (Figure 14B, 0.91 ± 0.1 g; $F_{4,25} = 0.41$, $p = 0.801$), condition factor (Figure 15A, 0.90 ± 0.1 ; $F_{4,25} = 2.68$, $p = 0.055$), hepatosomatic index (Fig. 15B, 1.7 ± 0.3 ; $F_{4,25} = 1.10$, $p = 0.376$), and energy content (Figure 16, 24.8 ± 0.5 kJ/g; $F_{4,25} = 0.81$, $p = 0.532$). Fish fed the commercial diet had good growth in terms of length and weight, with a weight gain of more than five times their initial weight in three months (from 0.9 ± 0.2 g to 5.4 ± 0.6 g), a condition factor of 1.1 ± 0.1 , a hepatosomatic index of 1.4 ± 0.3 , and an energy content of 24.2 ± 0.3 kJ/g.

Table 16. ANOVA results for protein, lipid, and protein \times lipid effects for individual length and weight, condition factor, hepatosomatic index, and energy content.

	Protein effect		Lipid effect		Protein \times Lipid	
	$F_{1,22}$	P	$F_{1,22}$	P	$F_{1,20}$	p
Individual length	28.84	0.0000	2.92	0.1017	0.16	0.6956
Individual weight	47.95	0.0000	1.23	0.2793	0.12	0.7330
Condition factor	19.55	0.0002	0.43	0.5194	0.10	0.7606
Hepatosomatic index	8.56	0.0078	0.06	0.8022	1.90	0.1828
Energy content	0.22	0.6431	12.23	0.0020	0.50	0.4885

In fish fed experimental diets, those fed the HPLL diet had growth very similar to those fed the commercial diet (Figure 14A, B). However, after the first month of feeding, condition factor (Figure 15A; $F_{4,25} = 21.49$, $p < 0.000$) and energy content (Figure 16; $F_{4,25} = 8.00$, $p < 0.000$) were higher for fish fed the commercial diet than for those fed HPLL. The growth (Figure 14A, B), condition factor (Fig. 15A), and energy content (Figure 16) of fish fed the HPHL and HPLL diets were similar while growth was slower for those fed the LPLL and LPHL diets (Figure 14). After three months, weight gain of fish fed the low protein diets was not even four times their initial weight while fish fed the high protein diets had a weight gain of more than five times their initial weight. The hepatosomatic index was only different between fish fed LPHL and HPHL (Figure 15B). Fish fed low protein diets were not significantly different from each other except for energy content, which was higher in fish fed the LPHL diet after one month (Figure 16; $F_{4,25} = 8.00$, $p < 0.000$) and at the end of the experiment (Figure 16; $F_{4,25} = 3.99$, $p = 0.012$).

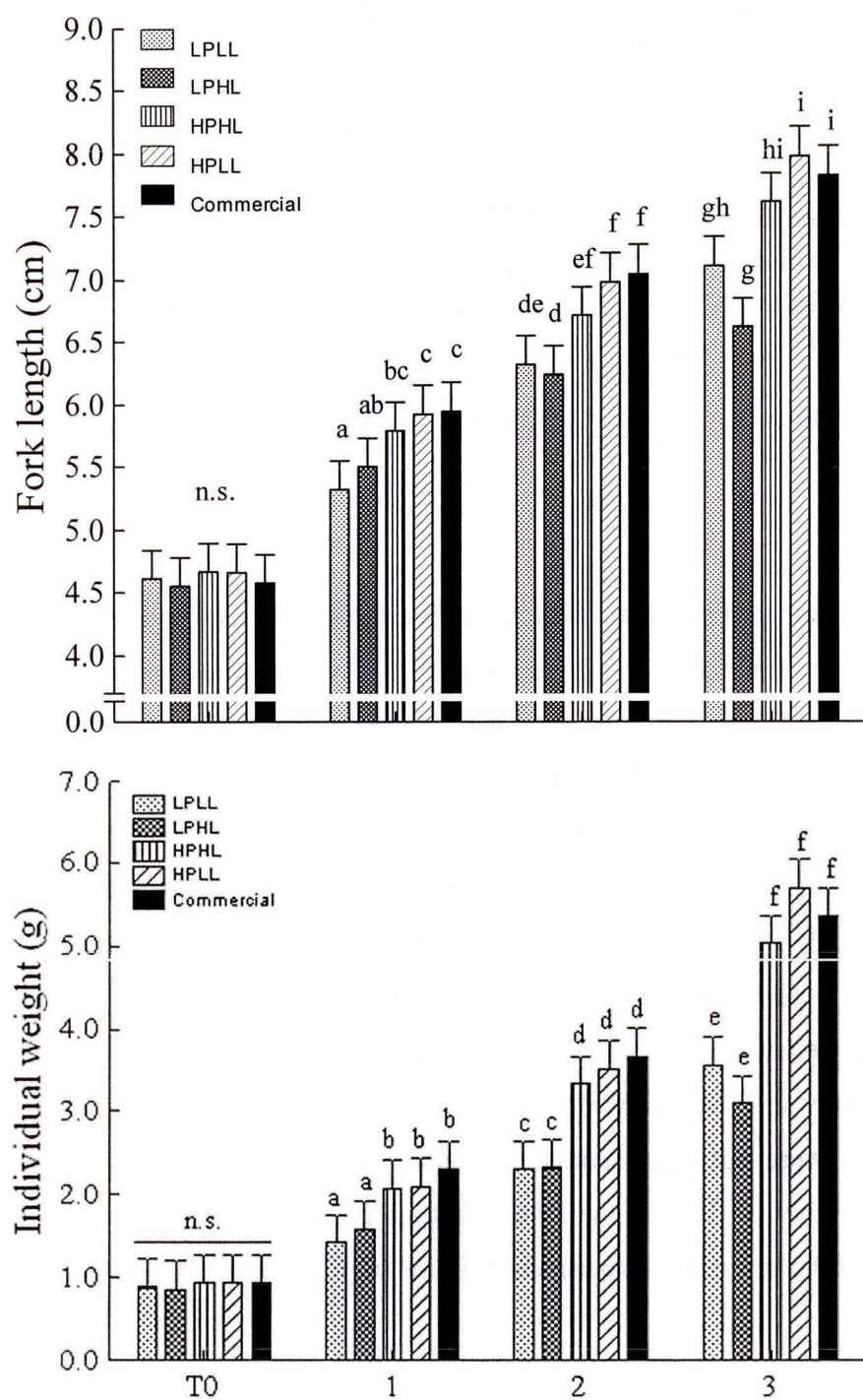


Figure 14. Fork length (A) and individual weight (B) of Arctic charr fed different diets for three months (1, 2, 3); T0 is before different diets were given. Data are presented as means \pm sd. Different letters indicate significantly different means ($\alpha = 0.05$).

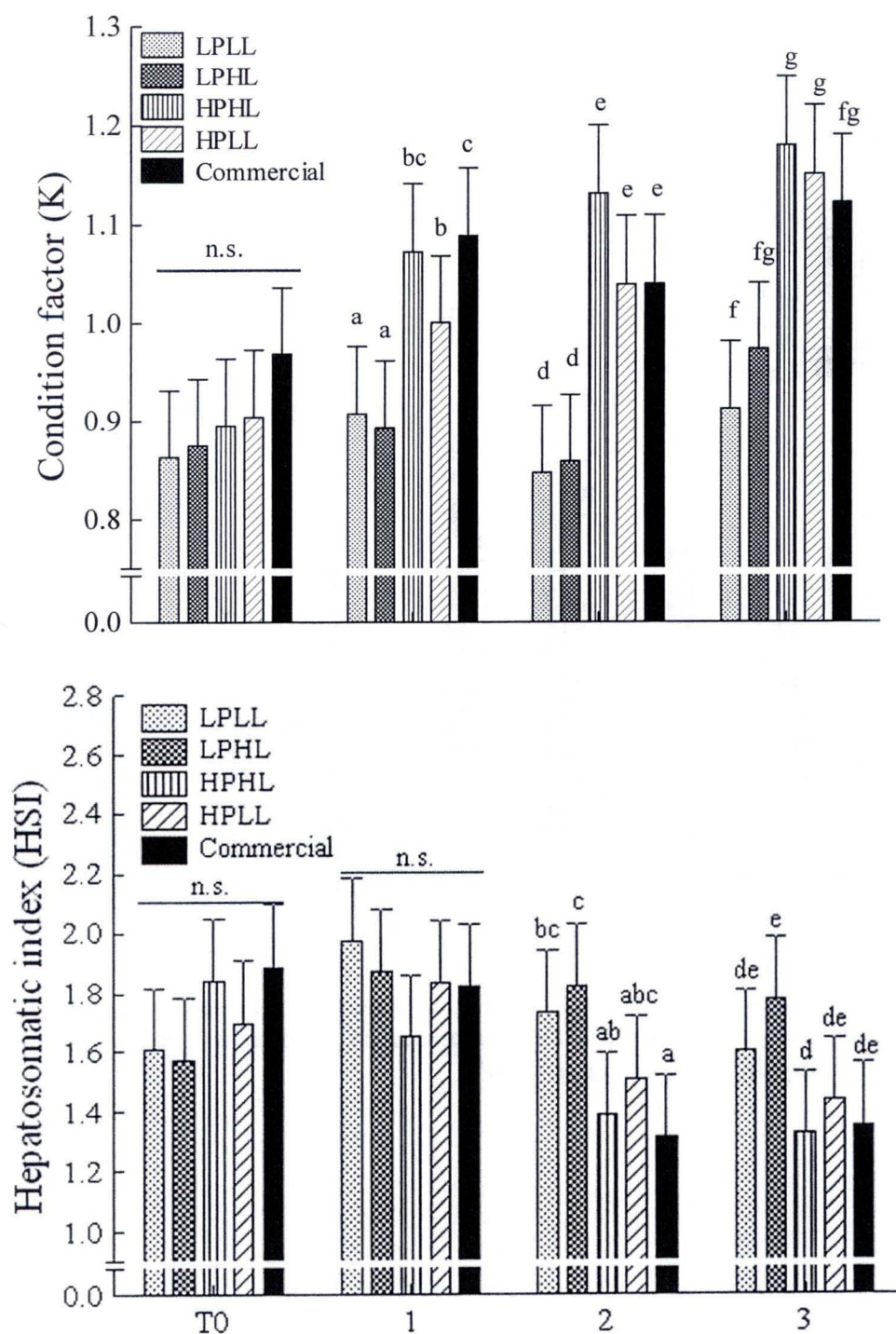


Figure 15. Condition factor (A) and hepatosomatic index (B) of Arctic charr fed different diets for three months (1, 2, 3); T0 is before different diets were given. Data are presented as means \pm sd. Different letters indicate significantly different means ($\alpha=0.05$).

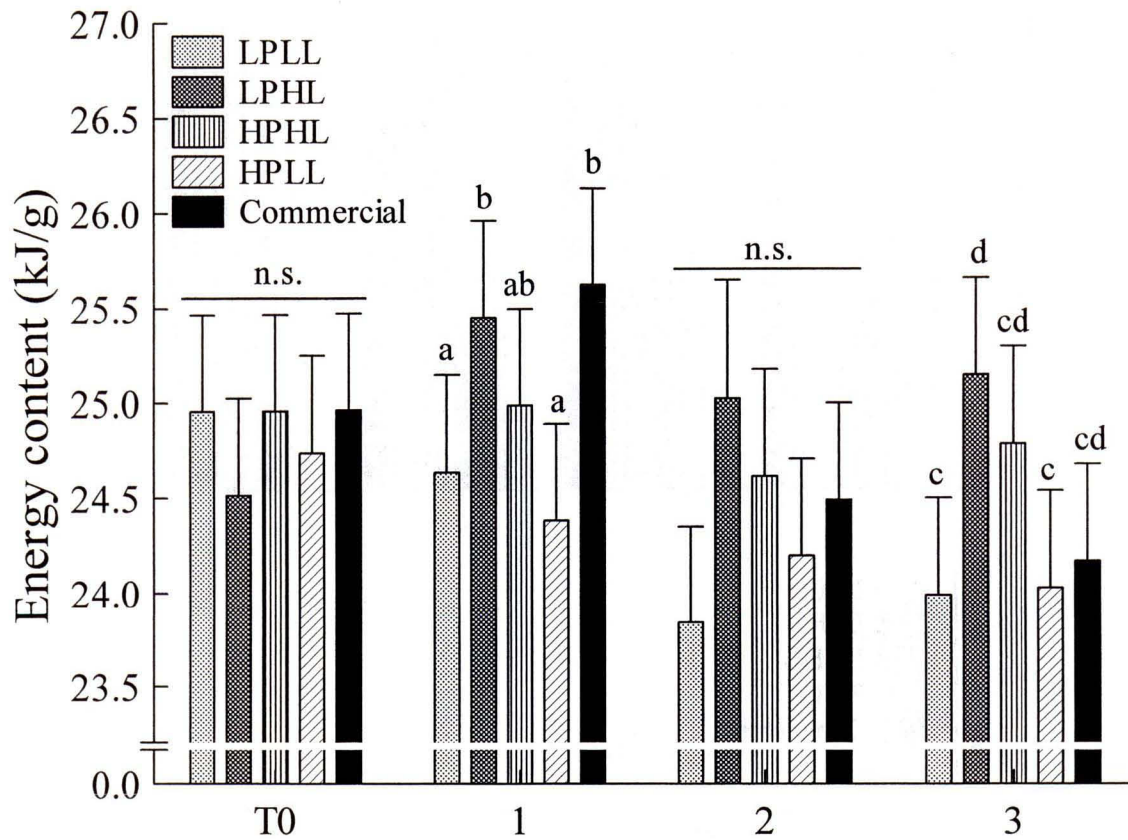


Figure 16. Energy content of Arctic charr fed different diets for three months (1, 2, 3); T0 is before different diets were given. Data are presented as means \pm sd. Different letters indicate significantly different means ($\alpha=0.05$).

DISCUSSION

To improve Arctic charr production, it is important to understand how dietary protein and lipid contents affect growth and energy storage in young-of-the-year Arctic charr and also how energy is used for growth relative to dietary macronutrient contents. Several previous studies were interested to this question but never considered both lipid and protein contents together, and neither for Fraser strain first-feeding fry. The results indicate that low dietary protein contents were not sufficient to ensure good growth in juvenile Arctic charr, but that high dietary protein contents were not excessive since fish fed these diets showed results similar to those fed commercial diet. On the other hand, lipids were less important for growth than proteins, but lipid content is the key factor influencing energy storage. Nevertheless, feed with a high energy content does not seem to be necessary to induce better growth at this life stage.

Improving growth by increasing dietary protein levels is well-known in the culture of carnivorous fish (NRC 1993). In the present study, fish fed diets with high protein content (HPhL + HPLl) had better growth than those fed low protein diets (LPLl + LPhL). In Atlantic salmon (*Salmo salar*), growth seems to be mainly controlled by dietary protein contents, more precisely, by protein catabolism (Sveier et al., 2000). It is well known that weight increase is related to the deposition of protein, which is a balance between protein anabolism and catabolism. According to Sveier et al. (2000), a lack of correlation between specific growth rate and amino acid incorporation to muscle indicated that it is the protein catabolism that controlled growth. Finally, other studies on striped bass, *Morone saxatilis*, and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, showed that increasing dietary protein has a positive effect on weight gain and growth rate (Austreng & Refstie, 1979; Millikin, 1983).

The poor growth of fish fed the low protein diets may also be related to some deficiencies in essential amino acid contents. Gurure et al. (2007) found that the lysine requirement for Arctic charr fingerlings was estimated at 3.40 g/100g. Since we were using high quality and nutritive ingredients (i.e., herring fishmeal + fish oil), to make our diets

and followed the fishmeal-rich formulation described by Cho et al. (1976) that is commonly used for salmonids, no particular attention was made to ensure the amino acids levels during feed formulation. To verify whether our fish could have suffered from an amino-acid deficiency, total amino acids analyses were conducted *a posteriori* on the experimental feeds. The low protein diets were indeed low in lysine according to Gurure et al. (2007) (less than 2.0 g/100g), which could partially explain the poor growth of fish fed the LPLL diet.

Dietary lipid content did not seem to influence growth in first-feeding Arctic charr. We found that fish fed diets with the same protein content diets (HP for example or LP as well) with different lipid contents (HL or LL) showed similar growth and condition factor, which may indicate that dietary lipids are less involved in growth at this developmental stage. In tilapia, growth rate was also not found to be correlated with the dietary lipid content (De Silva et al., 1991). Such findings have been reported for different juvenile fish, such as chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*), rainbow trout, and Atlantic salmon (Reinitz, 1983; Grisdale-Helland & Helland, 1997; Shearer & Swanson, 2000). However, in 1+ Atlantic salmon parr, growth seemed to be controlled by the maintenance of a distinct dietary lipid level (Berrill et al., 2004).

In fish nutrition, it is not uncommon to try to increase the energy content in the diet by increasing lipid content in order to decrease protein content and thus production costs. Previous studies on different fish species have already demonstrated that a diet too high in lipids could induce growth retardation (Jobling & Wandsvik, 1983; Ellis & Reigh, 1991; Wang et al., 2005) and metabolic imbalances due to lipid accumulation in liver (Luo et al., 2005; Chatzifotis et al., 2010). After two months of our dietary treatment, fish fed the LPHL diet had a higher hepatosomatic index and reduced growth compared to those fed the diet with a similar lipid content but higher protein one. However, fish fed same dietary lipid content but a higher protein content (HPHL diet) seemed to grow better and fish had low liver lipid content. This suggests that higher dietary protein content is needed with a high lipid content to ensure good growth. Indeed, a previous study on a different Arctic charr strain (Nayuk) found that when young fish (3.0 to 5.9 g at the beginning of the experiment)

were fed diets having more than 20% lipids and 34 to 44% proteins, lipids were deposited within the body tissues, while when dietary proteins were higher (54%), liver lipids were low (Tabachek, 1986). According to this study, the optimal protein and lipid contents for the Nayuk strain would be 54% proteins and 20% lipids for both growth and low lipid liver deposition in juvenile Arctic charr. This is similar to our HPHL diet.

Lower growth in fish fed a diet with excess energy could be caused by reduced feed consumption (Lovell, 1998). In the present study, feed consumption was not recorded (fish were fed to satiety, which was about 5% of the wet weight per day), but fish fed the higher energy content diet (LPHL diet) had a lower growth than fish fed the commercial diet, which was the diet with the lower energy content. The LPHL diet could have led to a satiety effect or a decrease in appetite because of the high energy content, while those fed the lower energy diet needed to consume greater quantities of feed to achieve the same energy content, thus producing higher growth. However, no observation was made on appetite during the experiment, so we cannot test this hypothesis.

The high lipid diets contained herring oil and other ingredients rich in carbohydrates, such as corn gluten and soybean meal. Salmonids have difficulty digesting carbohydrates like starch or cellulose (see Lovell, 1998; Johnston, 2002), especially in experimental diets formulated without steam. Thus large amounts of these components could affect digestibility and result in poor growth and low condition factors. However even if our experimental diets were not formulated with steam, the use of warm water (70°C) and oven (at 90°C for several hours) was supposed to act similarly. At the end of the experiment, fish fed the LPHL diet had a higher energy content than those fed the low lipid diets (LPLL and HPLL), indicating that the results were directly associated with lipid content. However, as previously discussed, lipid energy sources do not directly support growth enhancement.

Fish fed the high protein diets (HPHL and HPLL) had growth similar to those fed the commercial diet, which suggests that a specially formulated diet for first-feeding Arctic charr is not required. Previous studies on juvenile Norwegian and Fraser strain Arctic charr

reached the same conclusion, but based only on protein requirements (Jobling & Wandsvik, 1983; Gurure et al., 1995) without considering lipids. As previously discussed, dietary lipids should be considered even if they are less important for growth. However, considering our study, caution should be made when comparing the experimental diets with the commercial one since the manufacturing processes were not the same and this could affect the digestible energy of proteins and carbohydrates, even if growth results (same growth with HP diets and commercial one) suggested that our different manufacturing process would not necessarily affect them. After the micronutrients, proteins are the most expensive component in the feed. Therefore, it makes sense commercially to decrease the protein content of a feed if growth rate is not affected. Several studies on different fish species showed that the same optimized growth levels could be achieved by substituting lipids for proteins (Shian & Huang, 1990; Vergara et al., 1996; Lee et al., 2002; Alam & Watanabe, 2009). A study on age-0 striped bass found similar results for growth with fish fed diets with 57% protein and 17% lipid or with 47% protein and 12% lipid, suggesting that the latter diet could be preferred if protein costs are considered (Millikin, 1983). Further research should be conducted on Arctic charr to study the effect of lower protein contents (between 47 and 59%) while increasing lipid content. If no difference in growth is noted, this could have a direct benefit on production costs.

We should keep in mind that the use of fishmeal in fish production remains a controversial issue, especially concerning the impact of harvesting lower trophic levels of the food chain (Naylor et al., 2000; Tacon & Metian, 2008). Our results indicate that juvenile Arctic charr fed diets containing more than 50% plant proteins (soybean + corn gluten) had lower growth than those fed diets with higher percentages of animal proteins (fishmeal), which is probably due to the high carbohydrate content present in plants or to a deficiency in essential amino acids. Wilson (1994) reported that the use of carbohydrates as a potential protein replacement is problematic among fish species due to variable digestibility among species. However, a study on gilthead sea bream (*Sparus aurata*) of ~ 100 g, in which 75% of the fishmeal was replaced by plant protein sources (corn gluten meal, wheat gluten, extruded peas, rapeseed meal, and extruded whole wheat),

demonstrated that fish fed this diet had same growth as fish fed the diet of 100% fishmeal (De Francesco et al., 2007). Moreover, in order to decrease diet costs, lipid sources (herring oil in the current study) could also be replaced or complemented by alternative less expensive sources (e.g., Bureau & Meeker, 2011). Plant oils have been shown to sustain fish growth when used as supplement in salmonids diets (Torstensen et al., 2000; Tocher et al., 2003; Berntssen et al., 2005; Liland et al., 2012). Indeed, a study by Rosenlund et al. (2001) demonstrated that replacing 50–60% of the fish oil in the diet by different vegetable oils (rapeseed, linseed, palm, or soybean) did not lead to decreased growth in Atlantic salmon over a one-year experiment. However, liver lipid content increased significantly in 0+ Arctic charr fed diets including more than 50% rapeseed oil (Pettersson et al., 2009).

To conclude, dietary lipids were less important than dietary proteins for growth, but fish fed a high lipid content diet seemed to accumulate liver lipids and have high energy content. However, the high energy content in fish fed high lipids diets was not converted into growth, thus high dietary lipid content should be combined with a higher protein content to ensure optimal growth. Moreover, fish fed the low protein diet had poor growth while those with the higher content had growth similar to those fed the commercial salmonid diet. Thus, just considering the effects of proteins and lipids on growth in first-feeding Arctic charr, making a special diet for this species at this age does not seem useful. Further studies on optimal and well-balanced protein and lipid content could be useful to determine if it is possible to decrease diet costs. Before considering the substitution of dietary fish components by vegetable alternatives, more studies on Arctic charr requirements like amino (e.g., lysine, methionine) and fatty acids (EPA, DHA) are needed since these components are incomplete or scarce in plant-based ingredients.

CHAPITRE 4

CONCENTRATION DES HORMONES LEPTINE ET GHRÉLINE CHEZ DES OMBLES CHEVALIER (*SALVELINUS ALPINUS*) ÉLEVÉS EN EAUX DOUCE OU SAUMÂTRE

RÉSUMÉ

Pour de nombreux poissons, vivre dans un environnement à faible salinité a le potentiel d'améliorer non seulement leur croissance, mais également leur condition, ainsi que leur alimentation. Notre objectif était tout d'abord de vérifier si l'élevage de l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*) en eau saumâtre pourrait augmenter sa croissance, ainsi que sa condition, et également de corrélérer ces changements avec les taux circulants des hormones leptine et ghréline. Par conséquent, nous avons élevé des poissons d'âge 1+ pendant un an en eau douce ou en eau saumâtre. Au début de l'expérience, mais également après 2 et 12 mois, des sous-échantillons de poissons ont été prélevés afin de procéder à des mesures de croissance et à des prises de sang. Après un an, les poissons élevés en eau saumâtre étaient plus petits et moins lourds que ceux élevés en eau douce, ce qui va à l'inverse de ce qui était attendu. De plus, ces mêmes poissons avaient un taux d'hématocrite bas, alors que leur osmolalité sanguine était très élevée. Les concentrations plasmatiques de leptine et de ghréline fluctuaient tout au long de l'année et étaient affectées par l'environnement. En effet, la ghréline était négativement corrélée aux traits biométriques chez les poissons élevés en eau douce, alors qu'elle l'était positivement chez ceux élevés en eau saumâtre. La leptine de son côté n'était corrélée qu'avec la longueur chez les poissons en eau douce. Ces résultats suggèrent donc des effets orexigènes et anorexigènes de la ghréline et de la leptine chez l'omble chevalier.

Ce quatrième article, intitulé « *Leptin and Ghrelin Concentrations in Arctic Charr (Salvelinus alpinus) Raised in Fresh or Brackish Water* », fut corédigé par moi-même ainsi que par les professeurs Céline Audet et Sébastien Plante. En tant que premier auteur, ma contribution à ce travail fut l'essentiel de la recherche sur les hormones leptine et ghréline chez les poissons, ainsi que l'élevage en eau saumâtre, les analyses de laboratoire, le traitement des résultats et la rédaction de l'article. La professeur Céline Audet, second auteur, a aidé aux méthodes d'analyse, à l'approche statistique, au traitement des données, ainsi qu'à la révision de l'article. Le professeur Sébastien Plante, troisième auteur, a contribué à l'idée originale, a aidé aux méthodes d'analyse, au traitement des données, ainsi qu'à la révision de l'article. Une version abrégée de cet article a été présentée à l'*Association Canadienne d'Aquaculture*, à Québec, au printemps 2011.

**LEPTIN AND GHRELIN CONCENTRATIONS IN ARCTIC CHARR (*SALVELINUS ALPINUS*)
RAISED IN FRESH OR BRACKISH WATER**

ABSTRACT

For some fish, living in a low salinity environment often improves their growth, condition, and feeding. Our objective was to verify if rearing Arctic charr (*Salvenilus alpinus*) in brackish conditions would increase their growth and condition, and to correlate these changes with circulating leptin and ghrelin hormones. Therefore, we reared 1+ fish for one year under fresh or brackish water conditions. At the beginning of the trial and after two and 12 months of rearing, a subsample of fish from was taken for growth measurements and blood sampling. After one year, fish reared in brackish water were smaller and weighed less than those in fresh water, which was contrary to what we expected. Fish reared in brackish water also had a lower blood haematocrit level but very high blood osmolality. Plasma leptin and ghrelin concentrations fluctuated during the year and were affected by the environment. Plasma ghrelin was negatively correlated to biometric traits for fish reared in fresh water while the same traits were positively correlated for those reared in brackish water. Plasma leptin was correlated with length for fish reared in fresh water. The results suggest orexigenic and anorexigenic effects of ghrelin and leptin respectively in Arctic charr.

Keywords: Arctic charr, salinity effect, leptin, ghrelin, growth

INTRODUCTION

Appetite and growth in vertebrates are regulated through interactions among different hormones, including orexins, neuropeptide Y, leptin, ghrelin, and others. These hormones are produced mainly by peripheral organs, such as the gut or the liver (Volkoff et al., 2005; Gorissen et al., 2006, Volkoff et al., 2009). Peripheral signals received by the brain and hypothalamus are orexigenic if they stimulate appetite or anorexigenic if they inhibit it (Volkoff et al., 2005). However, the signalling mechanisms regulating food intake in fish are still unclear (Volkoff et al., 2010) and, as reported by Kaiya et al. (2008), they have been studied in only a few species. The appetite and amount of food consumed along with metabolism expenses determine the amount of energy available for growth and breeding (Volkoff et al., 2010). The regulation of growth is known to be multifactorial, but it is mainly regulated by growth hormone (GH) and insulin-like growth factor (IGF-I) (Volkoff et al., 2010). GH is regulated by different peripheral inhibiting or stimulating factors (Chang & Wong, 2009). Among them, IGF is known to inhibit GH secretion via a negative feedback regulation (Wong et al., 2006) while ghrelin is known to stimulate the release of GH (Kaiya et al., 2008).

Leptin is a hormone peptide constituted of 167 amino acids (Zhang et al., 1994). In human, this hormone is secreted mainly by adipose tissue while most synthesis in fish is thought to occur in the liver (Huisin et al., 2006; Murashita et al., 2008). In fish, as in mammals, leptin has an anorexigenic effect via the suppression of neuropeptide Y expression in the hypothalamus (Murashita et al., 2008). In juvenile immature Atlantic salmon (*Salmo salar*), intraperitoneal injection of leptin reduces growth by affecting food intake (Murashita et al., 2011). In rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), Kling et al. (2009) found that leptin concentrations differed according to the nutritional status of fish and that blood leptin concentration increased during fasting. Moreover, in Arctic charr (*Salvelinus*

alpinus), liver leptin concentration varies according to the season, with the highest concentration being observed in October and the lowest in spring (Frøiland et al., 2010).

Ghrelin is a hormone made up of 19 to 23 amino acids depending on the fish species (Kaiya et al., 2005); there are 28 amino acids in human (Kojima et al., 1999). In both fish and mammals, ghrelin is synthesized in the gastrointestinal tract and adipose tissue (Murashita et al., 2009). The action of ghrelin is known to be antagonistic that of leptin in humans (Shintani et al., 2001). In fish, the appetite stimulatory action of ghrelin was demonstrated in tilapia (*Oreochromis mossambicus*), goldfish (*Carassius auratus*), and rainbow trout (Unniappan et al., 2002, 2004; Riley et al., 2005; Miura et al., 2007; Shepherd et al., 2007). At present, only the orexigenic gastrointestinal peptide has been isolated in fishes (Murashita et al., 2009). In channel catfish (*Ictalurus punctatus*; Kaiya et al., 2005) and goldfish (Unniappan et al., 2004), ghrelin stimulates GH gene expression and hormone release. In goldfish, ghrelin also stimulates food intake and locomotor activity (Unniappan & Peter, 2005), while it seems to be involved in the long-term regulation of growth and energy homeostasis in Arctic charr. Frøiland et al. (2010) showed seasonal fluctuations of ghrelin gene expression in Arctic charr stomach (high in early autumn and late winter but low in mid-summer). However, the presence of seasonal fluctuations seems to be species-specific (Kaiya et al., 2008).

Intrinsic factors like energy reserves, ontogeny, or reproductive status and abiotic factors such as temperature, photoperiod, or salinity are of great interest in fish production because they may influence fish growth and health (e.g., Volkoff et al., 2010). Salinity can directly affect growth and feeding: Boeuf & Payan (2001) reported that increased growth in brackish water was a common feature in many freshwater fish species, like Arctic charr and tilapia (*Oreochromis* sp.), as well as saltwater fish species, like cod (*Gadus morhua*) and silver sea bream (*Sparus sarba*). However direct transfer from fresh water to salt water (salinity 10–35) does not seem to be beneficial, as demonstrated in three studies on salmonids, especially Arctic charr and Atlantic salmon, where appetite and growth were reduced (Usher et al., 1991; Arnesen et al., 1993a, b; Duston et al., 2007).

Anadromous populations of Arctic charr exhibit a strong seasonal rhythm in feeding and growth. They show high food intake and growth during summer, when they are in marine or estuarine environments, followed by a decrease in the autumn and winter, when returning to fresh water for breeding (Boivin & Power, 1990; Jørgensen et al., 1997). Arctic charr raised in fish farms also exhibit this seasonal rhythm for feeding and growth (Tveiten et al., 1996).

Our overall objective was to verify the influence of salinity on growth, especially whether fish reared in brackish water would have better growth than those in fresh water, and to test if growth differences induced by salinity could be associated with differences in the circulating concentrations of leptin and ghrelin.

MATERIALS AND METHODS

Familial design and fish rearing

In November 2006, 60 Arctic charr brood fish (30 males and 30 females) from the Coastal Zones Research Institute (CZRI, Shippagan, New Brunswick, Canada) were crossed to produce 30 full-sib families. From spawning to hatching, eggs from each family were incubated separately at constant temperature (6°C) in a flow-through system. After hatch and until June 2007, the families were reared separately. Temperature was gradually increased to 11°C from first feeding. In June 2007, all fish were fin-marked (familial identification) and transferred to five 4 m³ tanks (six families per tank) in a re-circulating system. Density varied from 45 kg/m³ (June 2007) to 65 kg/m³ (February 2008). In rearing tanks, temperature ranged from 8°C (in winter) to 12°C (in summer). In December 2007, fish were individually marked with PIT tags (AVID Canada Inc., Calgary, Alberta) to allow individual tracking.

In February 2008, 120 fish per family (3,600 fish total) were transferred to a fish farm (CanAqua Seafood Inc., Advocate, Nova Scotia, Canada) supplied with fresh groundwater. They were split among four outdoor tanks (30 fish per family and per tank). Density

increased from 65 kg/m^3 at the transfer to 90 kg/m^3 at the end of the experiment (June 2009). Fish were fed to satiety using Corey Aquafeeds food. In May 2008, salinity was increased to 20 ppt by the addition of seawater in two of the four tanks while the other two remained fresh. Temperature conditions varied according to the season (from 5°C to 15°C ; Figure 17).

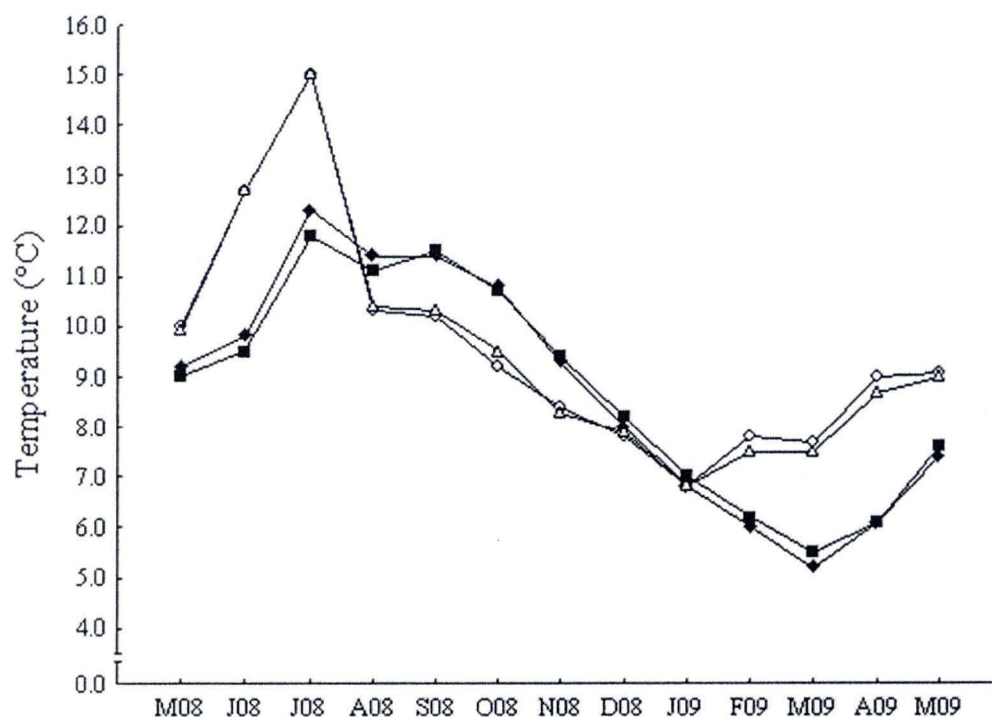


Figure 17. Water temperatures in rearing tanks from May 2008 to May 2009. Two tanks were fresh water (open symbols) and two were brackish (filled symbols).

Samplings

In May 2008, before fish were transferred to brackish water (T_0), 10 fish per family ($N = 300$) were anesthetized with 3-aminobenzoic acid ethyl ester methanesulfonate (MS-222; 160 mg/L), measured, and weighed; blood samples were taken using a heparinized syringe. Condition factor (K) was calculated using the following formula:

$$K = (W \times 100) / L^3$$

where W represents the total weight in grams and L the length in centimetres. For the second (October 2008) and the third (June 2009) samplings, ten fish per family and per treatment ($N = 600$) were sampled as described above.

Biological Analysis

Blood sample aliquots were collected in pre-heparinized microhaematocrit capillary tubes and centrifuged at 13,000 g for 5 min in a microhematocrit centrifuge. Haematocrit was measured using a microhaematocrit reader. The remaining blood was centrifuged at 5000 g for 3 min and plasma was stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ for subsequent analyses (osmolality, leptin, and ghrelin). Plasma osmolality (mmol/kg) was measured in duplicate using a vapor pressure osmometer (Vapro 5520, Wescor Inc., Logan, Utah, USA). Plasma leptin was measured using the Multi-species (100% specificity for human, 67% for pig, 61% for rat, and 73% for mouse) Leptin RIA kit (Linco Research Inc., St. Charles, Missouri, USA) and plasma ghrelin (human) using the Ghrelin RIA kit (Phoenix Pharmaceuticals Inc., Burlingame, California, USA), as described by Nieminen et al. (2003). All hormone analyses performed made in duplicate.

Data Analysis

Data normality was tested using the Kolmogorov-Smirnov test and homoscedasticity was checked with the Brown and Forsythe test (Quinn & Keough, 2005). Data from length, weight, osmolality, haematocrit, and condition factor were analyzed using three-way

ANOVAs to test for family and salinity effects. Rearing units were considered as the statistical unit ($N = 2$), and the ANOVA model was $Y = \text{TIME} + \text{SALINITY} + \text{SAMPLING} \times \text{SALINITY} + \text{family (SALINITY)} + e$, where sampling and salinity were the fixed effects and family was nested within salinity. For leptin and ghrelin concentrations, familial effect could not be tested because only 25 fish per tank, irrespective of the family, were randomly sampled. Two-way ANOVAs (sampling and salinity) were used without family effect. When relevant, a posteriori analyses were performed using Tukey HSD tests or Games and Howell tests when logarithms or power transformations failed to provide homoscedasticity. Correlations were calculated using Spearman's Correlation Coefficient analysis (rs). ANOVAs and correlations were performed using Statistica version 7.0 for Windows (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA) with a level of significance $\alpha = 0.05$ and Games and Howell using SPSS version 18.0 for Windows (IBM SPSS, Armonk, New York, USA).

RESULTS

After 13 months, fish reared in fresh water were significantly heavier (Figure 18A, time \times salinity: $F = 8.32$, $df = 2$, $p < 0.01$) and longer (Figure 18B, time \times salinity: $F = 13.4$, $df = 2$, $p < 0.0001$) than fish maintained in brackish water. In October, fish were longer and heavier than the previous May, but there was no difference for length or growth between those reared in fresh or brackish water (Figures 18A, B, C). At the beginning of the experiment, the 17-month-old animals had an average condition factor of 1.18 ± 0.16 , indicating a slender shape (Figure 18C). In October, fish maintained in fresh water had a significantly higher condition factor than they did the previous May (time \times salinity: $F = 1.43$, $df = 2$, $p > 0.05$) (Figure 18C). After one year of growth, both groups of fish had an average condition factor of 1.41 ± 0.27 , with a rounder shape than the year before. Family effects were present for biometric data such as for haematocrit and osmolality, but we do not present them in detail: we decided to focus here on salinity and time effects since family effect could not be tested for leptin and ghrelin.

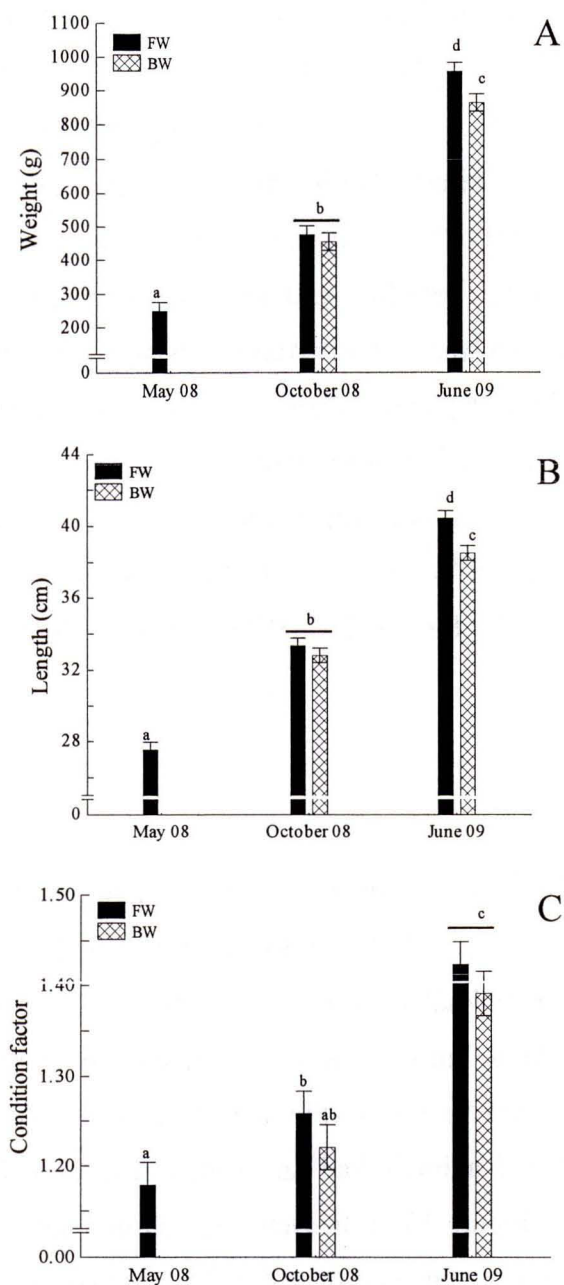


Figure 18. Weight (A), length (B), and condition factor (C) of 17-month-old (1+) Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) reared for a year in fresh or brackish water. Data are presented as means \pm sd. Different letters indicate significantly different means ($\alpha = 0.05$); bars with the same letter indicate no significant difference between groups. Vertical dashed lines separate T_0 from other samplings.

The blood haematocrit was more elevated in fish sampled after five (October) and thirteen (June) months than those sampled at the beginning of the experiment (May) (Figure 19A). The haematocrit level was also affected by the salinity of the rearing environment (time \times salinity: $F = 39.68$, $df = 2$, $p < 0.0001$): blood haematocrit was always significantly higher in fish reared in fresh water than in brackish water (Figure 19A), with a more elevated level in October than eight months later. On the contrary, blood haematocrit was similar between the two sampling times in brackish water fish (37.039 ± 8.161). Osmolality remained stable in freshwater fish throughout the survey and after one summer of rearing in brackish water (time \times salinity: $F = 87.70$, $df = 2$, $p < 0.0001$) (Figure 19B). However, by the following June, plasma osmolality had drastically increased in fish maintained in brackish water all winter.

Plasma leptin concentration showed different patterns relative to rearing conditions (time \times salinity: $F = 2.09$, $df = 2$, $p > 0.05$). In both groups of fish, plasma leptin concentration was significantly higher in October than in the previous spring, with concentrations similar between the two groups (Figure 20A). While the leptin concentration in fish in brackish water was similar the next June, it was significantly reduced in freshwater fish, where the concentration returned to the levels measured one year earlier. Plasma leptin concentration was not correlated with mass (Figure 21A) or condition factor (Figure 21C) but was correlated with length for fish reared in freshwater ($r_s = 0.2389$, $p = 0.0096$, Fig. 21B).

Plasma ghrelin concentration varied according to rearing conditions (time \times salinity: $F = 13.03$, $df = 2$, $p < 0.0001$). Plasma ghrelin concentrations were similar in freshwater fish in May and October (Figure 20B) while they were significantly lower—by one third—by the following June. In brackish water fish, the ghrelin concentration was significantly lower in October than in May, before transfer, and remained low until June. Plasma ghrelin concentration was negatively correlated with weight ($r_s = -0.2054$, $p = 0.00004$, Figure 21D), length ($r_s = -0.1801$, $p = 0.00016$, Figure 21E), and condition factor ($r_s = -0.1927$, $p = 0.00878$, Figure 21F) for fish reared in fresh water while correlations were positive for those reared in brackish water for weight ($r_s = 0.4107$, $p = 0.00002$, Figure 21D), length (r_s

= 0.3240, $p = 0.00035$, Fig. 21E), and condition factor ($r_s = 0.3575$, $p = 0.0006$ (Figure 21F).

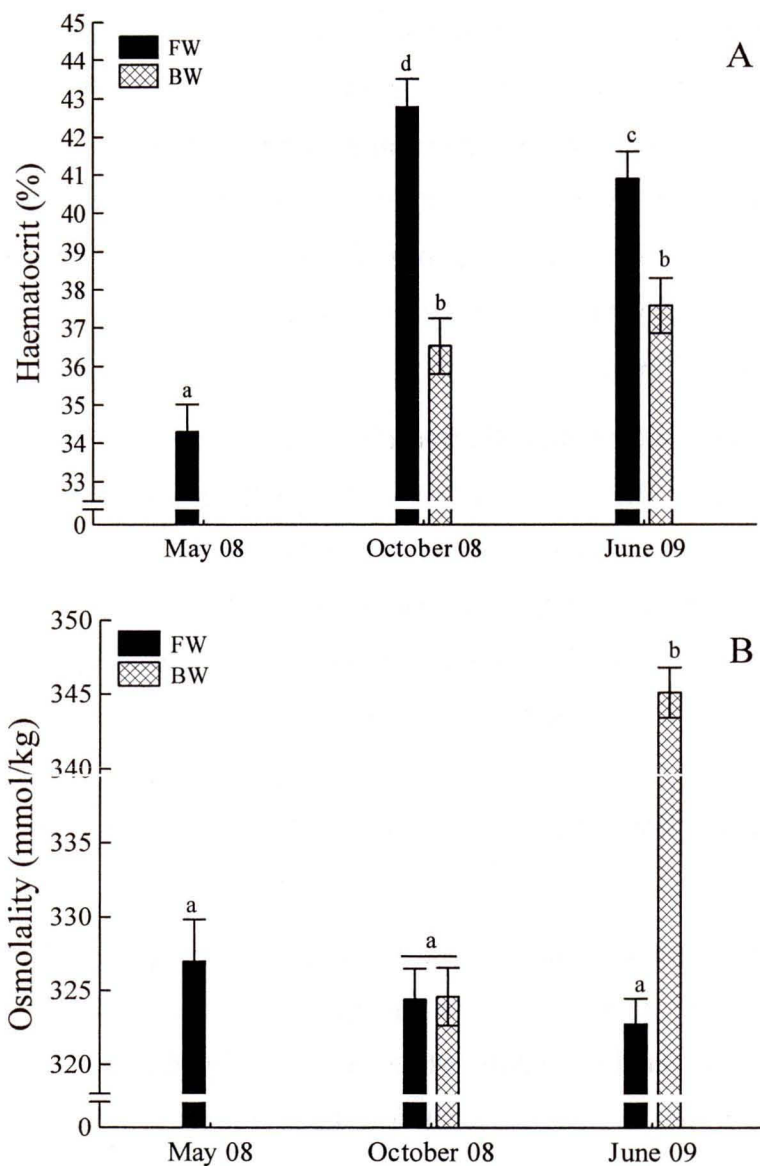


Figure 19. Haematocrit (A) and osmolality (B) of 17-month-old (1+) Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) reared for a year in fresh or brackish water. Data are presented as means \pm sd. Different letters indicate significantly different means ($\alpha = 0.05$); bars with the same letter indicate no significant difference between groups. Vertical dashed lines separate T_0 from other samplings..

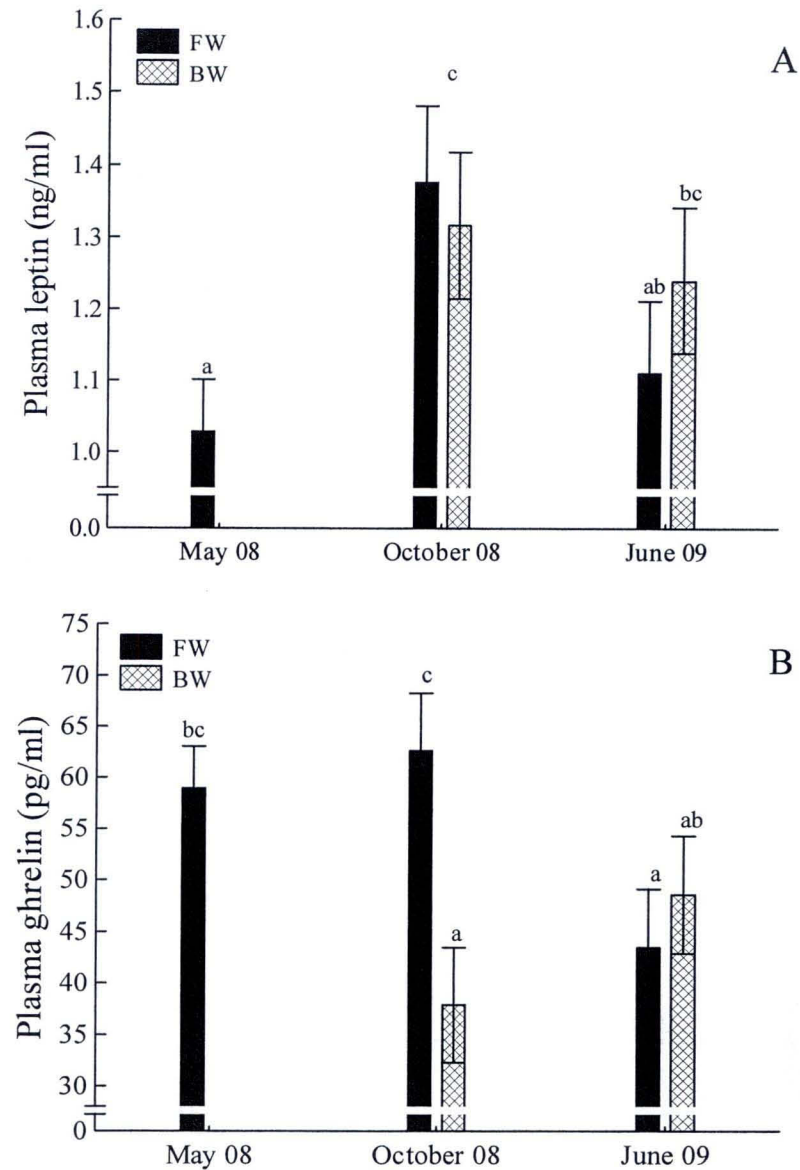


Figure 20. Plasma leptin (A) and ghrelin (B) of 17-month-old (1+) Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) reared for a year in fresh or brackish water. Data are presented as means \pm sd. Different letters indicate significantly different means ($\alpha = 0.05$); bars with the same letter indicate no significant difference between groups. Vertical dashed lines separate T_0 from other samplings.

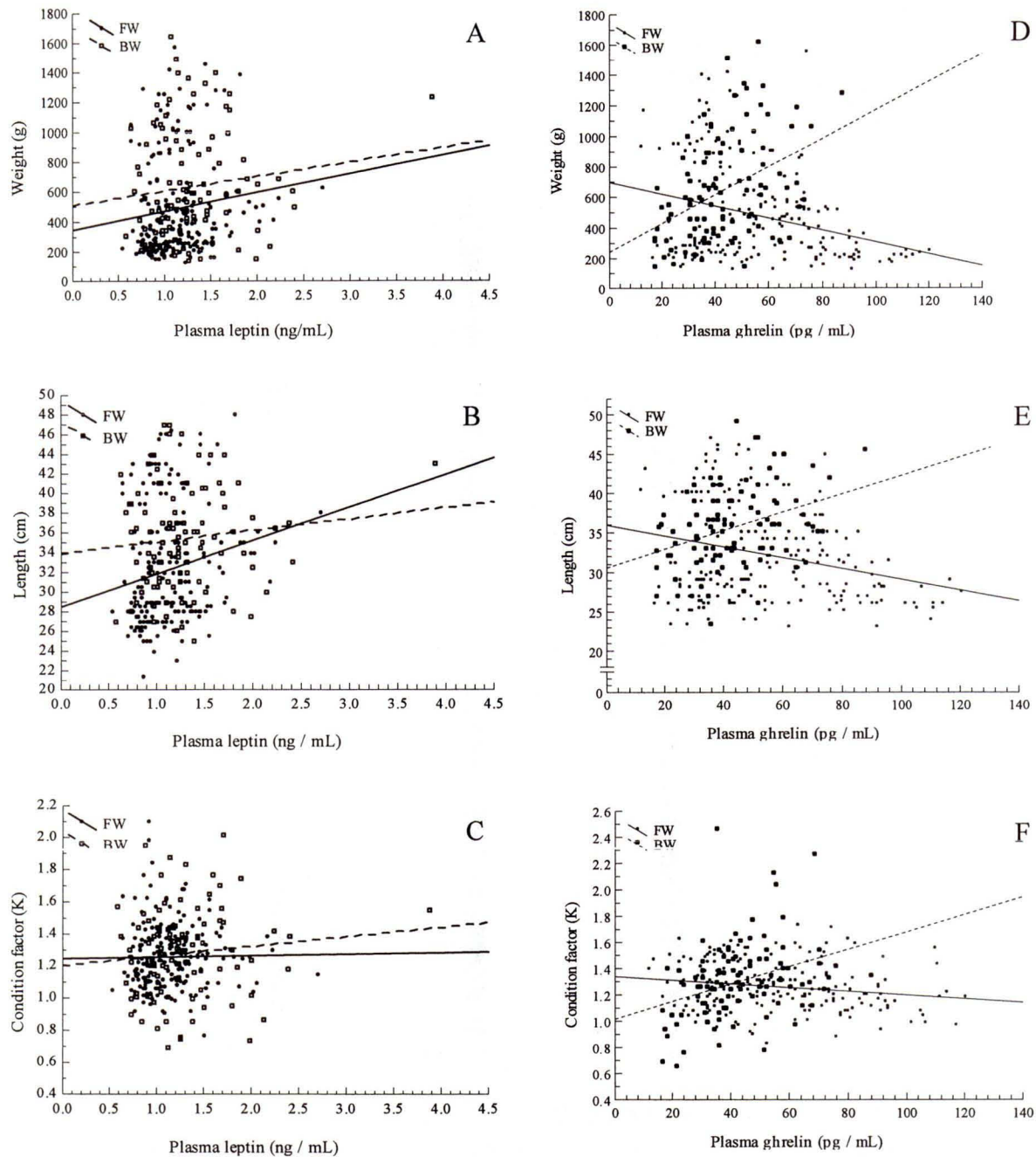


Figure 21. Correlations between the plasma leptin and weight (A), length (B), and condition factor (C), and between the plasma ghrelin and weight (D), length (E), and condition factor (F) in fresh and brackish water in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*).

DISCUSSION

Arctic charr reared in fresh water were longer (40.5 cm vs 38.5 cm) and heavier (956.1 g vs 862.4 g) than those reared in brackish water, which contradicts previous expectations (Bjerknes et al., 1992, Boeuf & Payan, 2001). This could be explained by strain specificities, as previously suggested by Delabbio et al. (1990). Duston et al. (2007), also using the Arctic charr Fraser strain in different salinities (0, 10, 20, 30 ppt), found lower weight gain at salinities of 20 than at lower salinities (0 and 10 ppt) after a six-month rearing period (from June to December).

Ghrelin and leptin are hormones that act over the short-term (Unniappan et al., 2004; Pankhurst et al., 2008; Xu & Volkoff, 2009), but seasonal effects are known to be present too (Mustonen et al., 2002; Nieminen et al., 2003). Fox et al. (2009) suggested that ghrelin may act as a long-term signal of hunger in tilapia, but that study was based on starvation effects. In the present study, fish were not starved, but different seasonal fluctuations of appetite are known to be present in Arctic charr (Arnesen et al., 1993b). Indeed, due to its northern distribution, this species undergoes several months of complete fasting, mainly during winter (Jamet, 1995).

Plasma ghrelin concentration was significantly correlated with length, weight, and condition factor; this contrasts with plasma leptin concentration, which was only correlated to length for fish reared in fresh water. In fresh water, the negative correlation between plasma ghrelin and weight or length supports an orexigenic effect. In salmonids, the orexigenic effect of ghrelin seems to be species-specific: in Atlantic salmon, ghrelin increases in starved fish (Murashita et al., 2009) while plasma ghrelin decreases during starvation in rainbow trout (Jönsson et al., 2007). On the other hand, plasma ghrelin concentrations were positively correlated with growth in brackish water. Such positive correlations between weight and ghrelin have also been found in mammals (female mink, *Mustela vison*, Ryökkynen et al., 2003; raccoon dog, *Nyctereutes procyonoides*, Nieminen et al., 2002). A similar environment effect was not seen for leptin, and most correlations

were not significant. Positive correlations between leptin concentration and weight have been found in different mammals, including humans, rodents (Maffei et al., 1995), and European brown bear (*Ursus arctos arctos*, Hissa et al., 1998). In fish, Mustonen et al. (2002) and Nieminen et al. (2003) found a negative correlation between body mass and plasma leptin concentrations in burbot (*Lota lota*). To our knowledge, our study is the first to demonstrate orexigenic and anorexigenic effects in Arctic charr.

Leptin concentrations measured in Arctic charr were in the same range as for burbot based on two other studies (1.7–2.8 ng/mL, Mustonen et al., 2002; 2.23–2.87 ng/mL, Nieminen et al., 2003). In gilthead seabream (*Sparus aurata*), lower concentrations were measured when fish were given a vegetable oil substitution diet (0.0215–0.0225 ng/mL, Ganga et al., 2005). The plasma ghrelin concentrations measured in our study in fresh water were quite similar (37–63 pg/mL) to those found in 1+ year rainbow trout (40–65 pg/mL, Pankurst et al., 2008) even though concentrations measured in brackish water were lower. In burbot, very high concentrations were measured (160 to 780 pg/mL, Mustonen et al., 2002, Nieminen et al., 2003). Plasma leptin and ghrelin concentrations could then be species-specific, but they could also be influenced by environmental factors such as salinity or period of year in Arctic charr.

At the end of the experiment, plasma osmolality was unexpectedly high in brackish-water fish, which could indicate a chronic stress for those fish. It is possible that these fish were under some stress that leads to an osmotic imbalance or maybe they ate less than those in fresh water. Further studies focussing on winter rearing could be relevant to clarify these points. However, a previous study on seawater tolerance on Arctic charr concluded that osmoregulatory capacity was clearly higher in summer than in winter (Finstad et al., 1989). This high plasma osmolality concentration could not be due to transfer to brackish water since concentrations were lower in October. While this high osmolality concentration occurred in the same group of fish that were lighter and shorter after one year, no significant mortality was related to this treatment.

It was not possible avoiding concomitant modifications of temperature conditions along with salinity: working in fish farming facilities precludes controlling temperature conditions. It is well known that temperature is one of the most important environmental factors that can affect feeding and growth in fish (Volkoff et al., 2009, Siikavuopio et al., 2010). At the end of our study, fish reared in fresh water had accumulated 270 more degree-days than fish reared in brackish water. Moreover, a study by Mathes et al. (2010) on migrating sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) showed that elevated temperatures induced a higher plasma hematocrit (41% vs 38%) compared to fish in cooler waters. In our study, plasma hematocrit was also higher in freshwater-reared fish, which accumulated more degree-days than fish in brackish water. This temperature effect could explain the higher plasma hematocrit levels for those fish, but with no effect on growth: since warm water has less dissolved oxygen than cold water (Graham, 2006), fish could have increased hematocrit levels to increase their oxygen transport capacity.

In conclusion, based on this study and with our rearing conditions, rearing Fraser strain Arctic charr in brackish water for one year does not improve growth. While warmer brackish water temperatures could be of interest for improving growth, we could not control water temperatures at the commercial site. Moreover, salinity seems to inhibit ghrelin production in the fall but not plasma leptin. For both hormones, further studies are necessary to better understand the underlying environmental effects and mechanisms.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Dans une optique d'amélioration et de diversification de la production aquacole au Canada, je me suis intéressée à divers aspects et étapes importantes de l'élevage de deux espèces d'intérêt commercial (le doré jaune et l'omble chevalier), plus spécifiquement, la qualité des œufs, l'alimentation et la croissance dans des environnements différents. Certains aspects précis ayant déjà été discutés dans les chapitres précédents, uniquement des points plus intégrateurs ou globaux seront développés dans cette discussion.

Les différentes étapes d'élevage sur lesquelles porte cette thèse peuvent être réparties dans trois périodes précises du cycle de vie d'un poisson, définies selon l'origine des ressources énergétiques disponibles pour le bon fonctionnement métabolique de l'individu : le stade d'alimentation endogène, durant lequel l'individu se nourrit uniquement sur ses réserves propres, le passage à l'alimentation exogène, durant lequel l'alevin commence à manger et termine son développement, et finalement le stade dit de grossissement durant lequel le poisson continue sa croissance pour atteindre la maturité sexuelle et produire des gamètes. À chacun de ces stades, les poissons auront des besoins spécifiques en terme de réserves énergétiques, d'alimentation, mais également d'environnement, cela afin d'assurer un développement optimal, tant du point de vue de la croissance qu'au niveau de la santé du poisson. D'un point de vue aquacole, chacune de ces étapes doit donc être pleinement maîtrisée et optimisée, en vue d'obtenir la meilleure performance possible.

CONTRIBUTIONS DE L'ÉTUDE

La qualité et le contenu des réserves lipidiques diffèrent entre nos deux espèces, soit le doré et l'omble chevalier, bien que dans les deux cas les œufs soient constitués de vitellus et d'une gouttelette d'huile. En effet, d'un point de vue purement qualitatif, nous avons mis en évidence que la fraction neutre de l'œuf (la gouttelette d'huile) de doré est composée de cires estérifiées et de triacylglycérides et représente 75% des réserves, alors que chez l'omble chevalier, elle contient principalement des triacylglycérides, qui ne comptent que pour 50% des réserves. Ces différences de composition pourraient être liées à des besoins thermiques différents en période d'incubation, mais aussi résulter de différentes stratégies de reproduction utilisées par ces deux espèces, soit la production de petits œufs en très grand nombre avec un développement rapide pour le doré et à l'inverse de plus gros œufs plus riches en phospholipides, mais en moins grande quantité et avec une longue durée de développement pour l'omble chevalier. Selon la revue de Henderson & Tocher (1987), la durée du développement est étroitement liée à la quantité de lipides et plus particulièrement de vitellus ou de lipides polaires dans l'œuf, ceux-ci jouant un rôle important en tant que précurseurs d'écosanoides, comme lipides de structure et comme source d'énergie pour le catabolisme (revu par Wiegand, 1996).

Aussi bien chez le doré que chez l'omble chevalier, certains acides gras présents dans l'œuf semblent jouer un rôle important dans la survie de l'embryon. Chez le doré, l'acide α -linolénique (C18:3n-3), précurseur des omégas-3 poly-insaturés, et l'acide arachidonique (C20:4n-6) joueraient un rôle important dans la résistance au stress, mais également pour l'acclimatation à des environnements froids (comme c'est le cas pour la plupart des PUFAs grâce à leurs nombreuses doubles liaisons assurant la fluidité membranaire à basse température), qui est un point très important pour des poissons qui sont élevés dans les conditions environnementales de l'Est du Canada. Chez l'omble chevalier, l'importance des PUFAs a été démontrée dans une étude antérieure par Pickova & Brännäs (2006), suggérant l'importance de l'acide arachidonique (C20:4n-6) en particulier et des *n-6* en général avec un minimum requis de plus de 9 % des acides gras totaux afin d'avoir des

œufs de bonne qualité, cela afin d'assurer une bonne résistance à différentes contraintes environnementales, dont la température. Dans notre cas, les contenus en *n-6* étant toujours supérieurs à 10 %, même chez des œufs n'ayant pas atteint l'éclosion, et ne permet donc pas d'expliquer les faibles taux de survie observés dans certains des croisements. Cependant, un acide gras mono-insaturé peu étudié jusqu'à présent pourrait jouer un rôle clé chez l'omble chevalier, bien qu'il ne représente que moins de 5 % du contenu en acides gras totaux, soit l'acide eicosénoïque (C20:1n-9). Très peu d'études ont porté sur ce MUFA et son rôle dans le développement embryonnaire des poissons est encore peu connu. Cependant il a été démontré que la présence de cet acide gras dans les œufs est généralement d'origine alimentaire et plus particulièrement lorsque les géniteurs sont nourris d'une moulée faite à base de poissons s'alimentant de copépodes, tels que le capelan et le hareng (Sargent, 1995). Dans notre cas, tous les géniteurs ayant été nourris avec la même moulée, la différence de contenu observée proviendrait plutôt d'une allocation différente des ressources chez les femelles au moment de la vitellogenèse. De plus, une étude chez le caplan (*Mallotus villosus*) a mis en évidence que durant les mois précédant la ponte, le contenu en 20:1n-9 dans les muscles augmentait, pour finalement être déposé dans les gonades (Henderson et al., 1984). Il serait ainsi intéressant, dans une prochaine étude, de s'intéresser au contenu en lipides chez les géniteurs, ce qui permettrait de lier plus étroitement le contenu lipidique des œufs à l'allocation investie par chaque femelle.

La quantité et la qualité des réserves lipidiques de l'œuf étant directement liées à la femelle, est-il possible de faire un lien entre la taille de celle-ci et le diamètre des œufs produits, comme décrit par Perry et al. (2004) chez l'omble de fontaine? Dans le cas présent, les réponses diffèrent selon l'espèce considérée. En effet, bien que cette relation ait été observée chez le doré, et démontrée avec notre population sauvage, ce n'est pas le cas chez l'omble chevalier, les tailles étant similaires entre les femelles utilisées. Cependant, aussi bien chez le doré que chez l'omble chevalier, nous avons observé que des œufs de plus grande taille, contenant une plus grande quantité de réserves lipidiques, présentaient

une meilleure survie à l'éclosion, comme cela a été antérieurement démontré chez d'autres espèces (Bromage et al., 1992, Kamler, 2005, Brooks et al., 1997).

Lors de l'éclosion et dans les mois qui suivent, l'utilisation des réserves vitellines puis d'une moulée adéquate semblent être un point clé dans la croissance et la fin du développement de l'alevin. Dans un premier temps, nous avons démontré que chez l'alevin vésiculé d'omble chevalier, la capacité à utiliser les MUFAs comme substrat pour le catabolisme est importante pour la survie de celui-ci. Cela avait déjà été démontré chez des espèces marines (revu par Wiegand, 1996), mais pas encore chez l'omble chevalier ni même chez des espèces d'eau douce en général. Une fois ses réserves vitellines entièrement consommées, le choix de la moulée utilisée devient primordial, d'autant plus que c'est à ce moment-là que le poisson aura la croissance la plus importante de tout son cycle de vie (Rombough, 1994).

En s'intéressant à l'alimentation chez des alevins de moins d'un an, nous avons pu démontrer non seulement que le niveau de protéines dans l'alimentation est très important, car ce sont ces dernières qui jouent un rôle majeur dans la croissance, mais également que les lipides, bien qu'importants pour le bon fonctionnement du métabolisme, interviendraient dans une moindre mesure sur la croissance. Cependant, une bonne croissance n'est pas l'unique considération intervenant dans le choix des aliments; en effet, la condition de l'individu est tout aussi importante et c'est à ce niveau-là, que le contenu en lipides dans la moulée prend toute son importance. En effet, nous avons démontré qu'un contenu en lipides trop élevé aurait pour effet non seulement de produire une accumulation des lipides dans le foie, ce qui n'est normalement pas le cas chez des poissons de cet âge, mais pourrait également induire un effet de satiété via la consommation d'une moulée énergétiquement trop riche et donc une diminution de la croissance (Lovell, 1998), comme observé chez nos poissons nourris avec une moulée riche en lipides et pauvre en protéines.

Concernant l'importance des protéines sur la croissance, versus celle des lipides, certaines précisions doivent être apportées. Premièrement, nous avons remarqué que, selon une étude antérieure sur les besoins en acides aminés de l'omble chevalier (Gurure et al.,

2007), nos moulées étaient toutes plus ou moins déficientes en lysine (valeurs entre 1,7 et 3,0 g/100g pour nos moulées, alors qu'il faudrait un minimum de 3,4 g/100g selon cette étude). Il faudrait donc prendre certaines précautions dans l'interprétation des résultats de croissance avec des moulées ayant un contenu faible en protéines, qui sont également celles ayant le contenu en lysine le plus faible. En effet, la faible croissance observée pourrait être en partie attribuable à un manque de cet acide aminé, ainsi qu'en méthionine, des études ayant démontré qu'il s'agit de deux acides aminés limitants chez notre espèce (Tye, 1997; Simmons & Moccia, 1997). Une alimentation pauvre en méthionine (moins de 2,4% des protéines totales) aurait pour conséquence une augmentation de la présence de cataractes chez les individus, induisant indirectement une diminution de la croissance, les poissons ayant une moins bonne vue et étant ainsi moins aptes à s'alimenter (Simmons & Moccia, 1997). La lysine étant impliquée dans de nombreux processus physiologiques tels que l'absorption du calcium, la production d'anticorps et d'enzymes ou la réparation des tissus, une carence pour cet acide aminé pourrait entre autre être la cause de la présence de lésions aux nageoires chez les salmonidés (Ketola, 1982; Miles & Chapman, 2008). Bien que nous n'ayons pas observé de telles lésions dans notre étude, les poissons nourris avec les moulées à faible contenu en protéines pourraient avoir subi un retard de croissance dû à de telles carences. La question reste donc ouverte, aurions-nous eu les mêmes résultats si nous avions porté une attention particulière au contenu en lysine de nos moulées à faible contenu en protéines? Deuxièmement, nous avons démontré que les lipides jouaient un rôle moins important en termes de croissance, mais cela ne veut pas dire qu'ils ne sont pas nécessaires. En effet, il a souvent été démontré que les acides gras poly-insaturés, tels que les acides arachidonique, eicosapentaénoïque et docosahexaénoïque, ont une grande importance au niveau du développement et de la croissance chez les poissons, étant impliqués dans différentes fonctions biochimiques, cellulaires et physiologiques (revu par Sargent et al., 1999 et Turchini et al., 2009). Comme ce fut le cas pour les acides aminés, lors de la fabrication de la moulée, nous n'avons pas porté d'attention particulière aux contenus en acides gras poly-insaturés, mais l'utilisation d'une recette publiée pour les salmonidés et d'huile de poissons marins riche en ces derniers devait nous affranchir de ce problème (les

contenus en EPA et DHA retrouvés dans nos moulées étaient majoritairement supérieurs à 1 %). De plus, à la vue des résultats, ces contenus ne semblent effectivement pas avoir été des éléments limitant la croissance; les poissons nourris avec la moulée riche en protéines et pauvre en lipides ont eu une croissance similaire à ceux nourris avec de la moulée commerciale.

Il paraît important de préciser qu'au moment de la mise sur pied du projet, l'objectif de départ était de tester l'effet de différents contenus en protéines et en lipides dans des moulées utilisées pour l'alimentation de jeunes alevins (moins de six mois). Pour cela, nous avons utilisé uniquement des ingrédients de haute qualité, telle que de la farine de hareng et de l'huile de poissons, en suivant le protocole de Cho et al. (1976) couramment utilisé pour la production de moulée pour salmonidés. Une fois l'expérience menée à terme, nous avons toutefois réalisé que selon l'étude de Gurure et al. (2007), toutes nos moulées étaient déficientes en lysine pour notre espèce (la plus forte concentration dans nos moulées expérimentales étant de 3.02 g/100g, alors que Gurure et al. ont démontré que la concentration minimale doit être de 3.40 g/100g). Toutes nos moulées ayant une carence pour cet acide aminé, on aurait dû observer des retards de croissance dans tous nos groupes expérimentaux par rapport à la moulée commerciale qui était correctement balancée, ce qui n'était pas le cas pour les poissons nourris avec les moulées riches en protéines, les croissances étant similaires.

Finalement, nous avons pu démontrer différents effets de l'environnement sur la survie, la croissance et le métabolisme de nos deux espèces. Pour le doré, même si l'étude de l'impact de l'environnement ne faisait pas partie des objectifs, celui-ci a probablement indirectement joué un rôle, rien que par le fait que nos dorés provenaient soit du milieu sauvage, soit de piscicultures. De plus, l'élevage en pisciculture n'était pas le même chez les deux pisciculteurs, d'un côté il se faisait en bassin en système ouvert et de l'autre en étang d'élevage. Même si dans les deux cas les conditions d'élevage respectaient les besoins de l'espèce, la production en étang présente quand même l'inconvénient de ne pas pouvoir contrôler tous les facteurs environnementaux, tels que ceux liés à la météo (voir Jobling, 2010). En considérant uniquement les individus élevés en pisciculture, le taux de

survie des œufs issus des géniteurs élevés en étang était nettement inférieur à ceux élevés en bassins. Cependant, comme le design expérimental n'avait pas été planifié pour tester ces effets, il n'est pas possible de tirer un lien direct entre le milieu d'élevage et le taux de survie.

Chez l'omble chevalier, contrairement à des études antérieures réalisées chez cette espèce, la température d'incubation des œufs n'a pas eu d'effet sur le taux de survie à l'éclosion. Cependant à l'éclosion, les alevins élevés à une température fixe de 6 °C étaient plus petits que ceux élevés à une température naturelle et leur contenu en lipides totaux diminué, suggérant ainsi un coût métabolique plus élevé (appuyé par des contenus en AMPL et stérols plus élevés qui pourraient laisser supposer une augmentation du métabolisme), dû à une croissance trop rapide, les réserves n'étant pas nécessairement consommées de façon optimale pour la croissance (utilisation comme source d'énergie plutôt qu'en tant qu'éléments de structure par exemple). Cependant, une fois toutes les réserves vitellines consommées (à la résorption du sac vitellin), l'effet de la température s'est résorbé. Cela s'explique probablement par le fait qu'une fois toutes les réserves consommées, les alevins ont obtenu l'énergie nécessaire à leur croissance via la moulée, laissant ainsi le génome de l'individu s'exprimer pleinement.

Chez les individus en grossissement, notre étude ne portait pas sur les effets de la température, cependant nous avons observé que les poissons qui étaient élevés en eau douce présentaient un pourcentage d'hématocrite plus élevé que ceux élevés en eau saumâtre. Une telle réponse nous indique qu'il y avait nécessairement un facteur interne ou exogène induisant ce taux élevé. Toutefois, il est difficile de relier la valeur élevée d'hématocrite à du stress chronique puisque ces poissons étaient plus gros que ceux en eau saumâtre. On peut supposer que la température de l'eau douce étant plus élevée en hiver que celle de l'eau saumâtre, la concentration en oxygène devenait plus limitante et que les poissons ont compensé par un accroissement du nombre de globules rouges, leur permettant d'augmenter leur capacité de transport d'oxygène. Dans cette même étude, nous avons pu démontrer que contrairement à ce qui avait été précédemment démontré chez l'omble chevalier, mais sur de plus courtes périodes, l'élevage en eau saumâtre pendant un an n'est

pas bénéfique pour la croissance. De plus, alors que pour la première fois nous avons démontré les effets orexigène et anorexigène des hormones ghréline et leptine chez l'omble chevalier, nous avons également mis en évidence que ces deux hormones ne répondent pas de façons similaires aux conditions environnementales. En effet, chez les individus élevés en eau saumâtre, la salinité semble avoir inhibé la production de la ghréline en automne, alors que pour la leptine aucune différence entre les deux milieux d'élevage n'était présente. Cela sous-entend donc que la ghréline serait une hormone influencée par des facteurs abiotiques, tel que la salinité; comme l'est la mélatonine avec la lumière, chez les saumons juvéniles (Bromage et al., 2001).

Pour l'étude de la leptine et de la ghréline, le défi était d'arriver à doser ces hormones uniquement sur du plasma sanguin, bien qu'une analyse par expression génique au niveau du système digestif, où ces hormones sont produites (l'estomac pour la ghréline et le foie pour la leptine), aurait très probablement été plus précise (voir Murashita et al., 2011). En effet, les dosages plasmatiques sont réalisés en utilisant des trousse RIA préalablement utilisés dans différentes études sur les poissons, tels que chez la lotte, la daurade royale ou la truite arc-en-ciel (Mustonen et al., 2002; Nieminen et al., 2003; Ganga et al., 2005; Pankhurst et al., 2008), mais non spécifiques à une espèce, ni même aux poissons en général, la trousse utilisée pour la leptine étant spécifique à l'humain (100 %), au porc (67 %), au rat (61 %) et à la souris (73 %) et celle pour la ghréline uniquement à l'humain, avec une homologie entre les séquences chez les poissons et les humains qui serait de plus de 50 % selon Kono et al. (2008). Cependant, selon les études précédemment citées, l'utilisation de ces trousse était concluante, d'où notre choix de les utiliser. De plus, les poissons utilisés pour cette étude l'étant également pour une étude de génétique quantitative, par une autre équipe de recherche, nous n'étions pas autorisés à sacrifier des poissons, mais seulement à faire des prélèvements non létaux, telles que des prises de sang.

Point de vue aquacole

Dès le tout début, les différents élevages réalisés dans le cadre de cette thèse devaient avoir lieu en pisciculture, afin de travailler de concert avec les pisciculteurs et de pouvoir mettre en pratique les résultats obtenus. Malheureusement, suite à une mortalité massive de pontes effectuées en 2008, les parties sur les jeunes stades d'ombles chevalier ont finalement été réalisées à la station aquicole de l'ISMER, mais le plus possible dans des conditions naturelles d'élevage. Faire de la recherche en pisciculture a été très motivant, les pisciculteurs ayant tous été très intéressés et concernés par les différents résultats obtenus afin d'essayer d'améliorer leur production. De plus, le travail en pisciculture peut offrir la possibilité de travailler avec un plus grand nombre de poissons. Cependant, contrairement à de la recherche faite en milieu contrôlé, en entreprise, il est souvent difficile de pouvoir contrôler tous les paramètres, tels que les paramètres environnementaux par exemple, comme cela a été le cas avec les poissons en grossissement. En effet, dans le cadre de notre étude sur l'effet de la salinité, les poissons en grossissement devaient être élevés en eaux douce ou saumâtre, en supposant que les températures soient semblables entre les deux milieux, mais cela n'a pas été possible, entraînant ainsi un biais dans l'interprétation de nos résultats, ne sachant pas toujours si nous observions un effet de la température ou de la salinité. Dans un autre ordre d'idée, dans des études de physiologie, il n'est pas rare de devoir sacrifier des poissons afin de faire des prélèvements de tissus, mais cela devient plus compliqué en travaillant avec des poissons de pisciculture, la pisciculture ne voulant pas nécessairement perdre sa production. Des échantillonnages non létaux se limitant souvent à des prises de sang ou de petits prélèvements de nageoires sont donc indispensables.

Comme mentionné précédemment, les pisciculteurs ont démontré un grand intérêt pour nos résultats afin d'essayer d'améliorer leur production. Ainsi dans une optique d'amélioration de la production du doré et de l'omble chevalier, plusieurs points de cette thèse doivent être pris en considération. Tout d'abord, comme vu précédemment, nous avons démontré que plusieurs acides gras (différents selon l'espèce) ont une importance dans le bon développement de l'embryon. La qualité des réserves contenues dans l'œuf

étant grandement dépendante des géniteurs, une attention particulière devrait donc être portée à l'état des géniteurs avant la reproduction, mais également à la qualité de la nourriture utilisée pour ces derniers, celle-ci jouant un rôle primordial dans la qualité des réserves que la femelle transmettra aux ovocytes.

De plus, sur la base des résultats obtenus avec des moulées contenant différentes teneurs en protéines et lipides, à défaut de produire spécialement une moulée pour l'omble chevalier, des individus de moins d'un an devraient être préférentiellement nourris avec des moulées formulées pour le saumon Atlantique (riches en protéines, faibles en lipides et supplémentées en lysine) plutôt que pour la truite arc-en-ciel (moins riches en protéines et non supplémentée en lysine) (revu par Johnston, 2002). L'amélioration des connaissances sur les besoins spécifiques de l'espèce en termes d'acides aminés et d'acides gras semble encore nécessaire. En effet, dans l'optique actuelle de gestion durable des ressources aquatiques, la tendance va vers un remplacement au moins partiel d'une partie des ingrédients issus d'huile et de farine de poisson par des ingrédients végétaux, cela principalement pour des moulées utilisées pour les stades de grossissement. Cependant, ces derniers étant généralement moins riches en certains acides aminés et PUFAs (Hertrampf & Piedad-Pascual, 2000), la connaissance des besoins spécifiques de chaque espèce prend ici toute son importance.

Finalement, il ne faudrait pas sous-estimer l'importance de l'environnement dans lequel l'élevage est fait. Ainsi, nous avons pu démontrer qu'un élevage à température naturelle est bien plus bénéfique sur la croissance de l'éclosion à la résorption du sac vitellin. De plus, chez des individus plus âgés n'ayant pas encore atteint la maturité sexuelle, un élevage en continu en eau saumâtre pendant un an semble induire une moins bonne croissance que chez des individus gardés en eau douce. Cependant pour un élevage optimal d'ombles chevalier anadromes, un passage en eau saumâtre durant quelques mois, respectant ainsi les migrations et par le fait même les capacités osmorégulatrices de cette espèce (Finstad et al., 1989), pourrait représenter une alternative idéale. Dans le cas du doré, l'influence de l'environnement d'élevage (étang vs. bassin) sur la survie de la progéniture serait un point à approfondir.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les différentes expériences menées aussi bien en pisciculture qu'en milieu contrôlé nous ont permis de mettre en évidence certaines caractéristiques propres à chaque espèce, mais également aux populations étudiées. Ainsi, chez le doré, nous avons pu mettre en évidence un lien direct entre la taille des femelles lors du frai et le diamètre des œufs produits. Au niveau des lipides de réserve (fraction neutre) présentes dans les œufs, ceux de doré contiennent surtout des triacylglycérides et des cires estérifiées, alors que chez l'omble chevalier ils contiennent principalement des triacylglycérides. Chez le doré, certains PUFAs chez le doré pourraient jouer un rôle majeur sur la survie, alors que chez l'omble chevalier les acides gras ne semblent pas influencer de façon significative les taux de survie à l'éclosion.

En début d'alimentation exogène, nous avons démontré, chez l'omble chevalier, que le contenu en protéines doit être élevé (plus de 60%) pour assurer une croissance optimale, mais qu'un niveau de lipides trop élevé, associé avec un faible contenu en protéines, a des impacts négatifs sur l'état général des poissons et leur croissance.

Chez des individus en cours de développement, nous avons démontré qu'une température d'incubation fixe et élevée n'affecte pas la survie de façon significative, mais induirait une augmentation du coût métabolique chez les embryons, résultant en des individus de plus petite taille à l'éclosion. Chez des individus en grossissement, nos travaux ont montré que les conditions d'élevage influencent différemment la leptine et la ghréline, deux facteurs endocriniens régulant l'appétit, mais ces travaux doivent être poursuivis pour mieux élucider le rôle exact et la synergie entre ces deux hormones.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABIMORAD, E.G., G.C. FAVERO, D. CASTELLANI, F. GARCÍA, D.J. CARNEIRO. 2009. Dietary supplementation of lysine and/or methionine on performance, nitrogen retention and excretion in pacu *Piaractus mesopotamicus* reared in cages. *Aquaculture* 295: 266–270.
- ACKMAN, R. G., T. TAKEUCHI. 1986. Comparison of fatty acids and lipids of smelting hatchery-fed and wild Atlantic salmon *Salmo salar*. *Lipids* 21: 117-120.
- ALAM, S.M.D., W.O. WATANABE. 2009. Effect of different dietary protein and lipid levels on growth performance and body composition of juvenile southern flounder, *Paralichthys lethostigma*, reared in a recirculating aquaculture system. *Journal of the World Aquaculture Society* 40: 513-521.
- AOAC. 2012. Official methods of analysis (19th Edition). Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- ARNESEN, A. M., E. H. JØRGENSEN, M. JOBLING. 1993a. Feed intake, growth and osmoregulation in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), following abrupt transfer from freshwater to more saline water. *Aquaculture* 114: 327-338.
- ARNESEN, A.M., E.H. JØRGENSEN, M. JOBLING. 1993b. Feed intake, growth and osmoregulation in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), transferred from freshwater to saltwater at 8 C during summer and winter. *Fish Physiology and Biochemistry* 12: 281-292.

- ATSE, C.B., C. AUDET, J. DE LA NOÛE. 2002. Effects of temperature and salinity on the reproductive success of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.): egg composition, milt characteristics and fry survival. *Aquaculture Research* 33: 299-309.
- ARAÚJO, B.C., R.M. HONJI, P.H. DE MELLO, R.G. MOREIRA. 2012. The influence of captive breeding on the fatty acid profiles of *Salminus hilarii* (Characiformes: Characidae) eggs and larvae. *Aquaculture International* 20: 1161-1181.
- AUSTRENG, E., T. REFSTIE. 1979. Effect of varying dietary protein level in different families of rainbow trout. *Aquaculture* 18: 145-156.
- BARTEL R., B. FAŁOWSKA, K. BIENIARZ, P. EPLER. 2005 – Dependence of egg diameter on the size and age of cultivated female lake trout (*Salmo trutta m. lacustris* L.). *Archiwum Rybactwa Polskiego* 13: 121-126.
- BELL, M.V., D.R. TOCHER. 1989. Molecular species composition of the major phospholipids in brain and retina from rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Biochemistry Journal* 264: 909-915.
- BELL, M.V., J.R. DICK. 1991. Molecular species composition of the major diacyl glycerophospholipids from muscle, liver, retina and brain of cod (*Gadus morhua*). *Lipids* 26: 565-573.
- BERNATCHEZ, L., M. GIROUX. 2000. Les poissons d'eau douce du Québec et leur répartition dans l'est du Canada. BROQUET, M. (ed). LaPrairie, Québec. 304 p.
- BERRILL, I.K., M.J.R. PORTER, N.R. BROMAGE. 2004. The influence of dietary lipid inclusion and daily ration on growth and smoltification in 1+ Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *Aquaculture* 242: 513-528.
- BERNTSSEN, M.H.G., A.K. LUNDEBYE, B.E. TORSTENSEN. 2005. Reducing the levels of dioxins and dioxin-like PCBs in farmed Atlantic salmon by substitution of fish oil with vegetable oil in the feed. *Aquaculture Nutrition* 11: 219-231.

- BJERKNES, V., J. DUSTON, D. KNOX, P. HARMON. 1992. Importance of body size for acclimation of underyearling Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) to seawater. *Aquaculture* 104: 357-366.
- BOBE, J., C. LABBÉ. 2010. Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology* 165: 535-548.
- BOEUF, G., J. FALCÓN. 2001. Photoperiod and growth in fish. *Vie Milieu* 51: 247-266.
- BOEUF, G., P.-Y. LE BAIL. 1999. Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture* 177: 129-152.
- BOEUF, G., P. PAYAN. 2001. How should salinity influence fish growth? *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 130: 411-423.
- BOIVIN, T.G. & G. POWER. 1990. Winter condition and proximate composition of anadromous Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) in eastern Ungava Bay, Quebec. *Canadian Journal of Zoology* 68: 2284-2289.
- BRADFORD, M.J., C.P. TOVEY, L.-M. HERBORG. 2008. Biological risk assessment for Northern pike (*Esox Lucius*), pumpkinseed (*Lepomis gibbosus*), and walleye (*Sander vitreus*) in British Columbia. *Canadian Science Advisory Secretariat Resources* 2009/074.
- BRETT, J.R. 1979. Environmental factors and growth. In: *Fish Physiology* vol. VIII *Bioenergetics and Growth*. HOAR, W.S., D.J. RANDALL & J.R. BRETT (eds). Academic Press, New York. 786 p.
- BRISTOW, B.T., R.C. SUMMERFELT, R.D. CLAYTON. 1996. Comparative performance of intensively cultured larval walleye in clear, turbid, and colored water. *Progressive Fish-Culturist* 58: 1-10.

- BROMAGE, N., J. JONES, C. RANDALL, M. THRUSH, B. DAVIES, J. SPRINGATE, J. DUSTON, G. BARKER. 1992. Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 100: 141-166.
- BROMAGE, N., M. PORTER, C. RANDALL. 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture* 197: 63-98.
- BROOKS, S., C.R. TYLER, J.P. SUMPTER. 1997. Egg quality in fish: what makes a good egg? *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 7: 387-416.
- BRUSLÉ, J., J.P. QUIGNARD. 2004. Les poissons et leur environnement. Éditions Tec et Doc-Lavoisier. 1552p.
- BRYANT, P.L., A.J. MATTY. 1981. Adaptation of carp (*Cyprinus capio*) larvae to artificial diets. 1. Optimal feeding rate and adaptation age for a commercial diet. *Aquaculture* 23: 275-286.
- BUDGE, S. M., S. J. IVERSON, H. N. KOOPMAN. 2006. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: A primer on analysis and interpretation. *Marine Mammal Science* 22: 759-801.
- BURDEN, D. 2007. Walleye profile. AG MRC Agricultural Marketing Resource Center, Iowa State University. 2 p.
- BUREAU, D.P., D.L. MEEKER. 2011. Terrestrial animal fats. In: Turchini, G.M., W.-K. Ng & D.R. Tocher (eds). *Fish Oils Replacement and Alternative Lipid Sources in Aquaculture Feeds*. CRC Press, Boca Raton. pp. 245-266.
- BURKE, M.G., M.R. KIRK, N.A. MACBETH, D.J. BEVAN, R.D. MOCCIA. 2005. Influence of photoperiod and feed delivery on growth and survival of first-feeding Arctic charr. *North American Journal of Aquaculture* 67: 344-350.

- CAMPBELL, N.A., J.B. REECE. 2007. *Biologie* (3^e ed). De Boeck. 1334 p.
- CHANG, J. P., A. O. L. WONG. 2009. Growth hormone regulation in fish: a multifactorial model with hypothalamic, peripheral and local autocrine/paracrine signals. In: Bernier, N.J., G. Van Der Kraak, A.P. Farrell, and C.J. Brauner (eds). *Fish Physiology*. Academic Press, New York, USA. pp. 151-195.
- CHATZIFOTIS, S., M. PANAGIOTIDOU, N. PAPAIOANNOU, M. PAVLIDIS, I. NENGAS, C.C. MYLONAS. 2010. Effect of dietary lipid levels on growth, feed utilization, body composition and serum metabolites of meagre (*Argyrosomus regius*) juveniles. *Aquaculture* 307: 65-70.
- CHO, C.Y., S.J. SLINGER, H.S. BAYLEY. 1976. Influence of level and type of dietary proteins, and of level of feeding on feed utilization by rainbow trout. *Journal of Nutrition* 106: 1547-1556.
- CLARKE, W.C., D.A. HIGGS. 1984. Influence of varying dietary protein:lipid ratios and water temperature of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Proceeding International Symposium on Feeding and Nutrition in Fish, Aberdeen, Scotland, 10-13 July, 1984. (Abstract).
- COLBY, P. J., R. E. MCNICOL, R. A. RYDER. 1979. Synopsis of biological data on the walleye *Stizostedion v. vitreum* (Mitchill 1818). *FAO Fisheries Synopsis* 119.
- CONCEIÇÃO, L.E.C., H. GRASDALEN, I. RØNNESTAD. 2003. Amino acid requirements of fish larvae and post-larvae: new tools and recent findings. *Aquaculture* 227: 221-232.
- CONCEIÇÃO, L.E.C., C. ARAGÃO, J. DIAS, B. COSTAS, G. TEROVA, C. MARTINS, L. TORT. 2012. Dietary nitrogen and fish welfare. *Fish Physiology and Biochemistry* 38: 119-141.

- COWEY, C.B., J.G. BELL, D. KNOX, A. FRASER, A. YOUNGSON. 1985. Lipids and lipid antioxidant systems in developing eggs of salmon (*Salmo salar*). *Lipids* 20: 567-572.
- CROCKETT, E.L. 1998. Cholesterol function in plasma membranes from ectotherms: membrane-specific roles in adaptation to temperature. *American Zoologist* 38: 291-304.
- CZESNY, S., K. DABROWSKI. 1998. The effect of egg fatty acid concentrations on embryo viability in wild and domesticated walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquatic Living Resources* 11: 371-378.
- CZESNY, S., J. RINCHARD, K. DABROWSKI. 2005. Intrapopulation variation in egg lipid and fatty acid composition and embryo viability in a naturally spawning walleye population from an Inland reservoir. *North American Journal of Fisheries Management* 25: 122-129.
- DE FRANCESCO, M., G. PARISI, J. PÉREZ-SÁNCHEZ, P. GÓMEZ-RÉQUENI, F. MÉDALE, S.J. KAUSHIK, M. MECATTI, B.M. POLI. 2007. Effect of high-level fish meal replacement by plant proteins in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) on growth and body / fillet quality traits. *Aquaculture Nutrition* 13: 361-372.
- DELABBIO, J. L., B. D. GLEBE, A. SREEDHARAN. 1990. Variation in growth and survival between two anadromous strains of Canadian Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) during long-term saltwater rearing. *Aquaculture* 85: 259-270.
- DELABBIO, J. 1995. Arctic charr culture in Atlantic Canada. In: Boghen, A.D. (ed). *Cold-water Aquaculture in Atlantic Canada*. The Tribune Press Ltd, Sackville. pp. 83-106.

- DE PEDRO, N., R. MARTINEZ-ALVAREZ & M.J. DELGADO. 2006. Acute and chronic leptin reduces food intake and body weight in goldfish (*Carassius auratus*). Journal of endocrinology 188: 513-520.
- DE SILVA, S.S., R.M. GUNASEKERA, K.F. SHIM. 1991. Interactions of varying dietary protein and lipid levels in young red tilapia: evidence of protein sparing. Aquaculture 95: 305-318.
- DE SILVA, S.S., T.A. ANDERSON. 1995. Fish nutrition in Aquaculture. Chapman & Hall, London, UK. 340 p.
- DESROSIERS, V., N.R. LE FRANÇOIS, H. TVEITEN, I. ANDREASSEN, P.U. BLIER. 2008. Ontogenesis of catabolic and energy metabolism capacities during the embryonic development of spotted wolffish (*Anarhichas minor*). Comparative biochemistry and physiology part B 150: 200-206.
- DE VAREILLES, M., L.E.C. CONCEIÇÃO, P. GÓMEZ-REQUENI, K. KOUSOULAKI, N. RICHARD, P.M. RODRIGUES, K.E. FLADMARK, I. RØNNESTAD. 2012. Dietary lysine imbalance affects muscle proteome in zebrafish (*Danio rerio*): a comparative 2D-DIGE study. Marine Biotechnology 14: 643-654.
- DLABOGA, R. BARTEL, K. BIENIARZ, P. EPLER. 1998. Relation between egg size and body size and age of females in brook trout (*Salvelinus fontinalis* Mitchell). Archiwum Rybactwa Polskiego 6: 27-35.
- DUSTON, J., T. ASTATKIE, S. B. MURRAY. 2007. Effect of salinity at constant 10°C on grow-out of anadromous Arctic charr from Labrador. Aquaculture 273: 679-686.
- ELLIS, S.C., R.C. REIGH. 1991. Effects of dietary lipid and carbohydrate levels on growth and body composition of juvenile red drum, *Sciaenops ocellatus*. Aquaculture 97: 383-394.

- ERIKSSON, L. 1991. Arctic charr farming in Sweden. In: From Securing Eggs to the Grow-out and Delivery of Product to the Consumer. Aquaculture Industry Development Report, Arctic charr workshop proceedings. Province of British Columbia, Canada. pp. 8-11.
- ERIKSSON, L.-O., A. ALANÄRÄ, J. NILSSON & E. BRÄNNÄS. 2010. The Arctic charr story: development of subarctic freshwater fish farming in Sweden. *Hydrobiologia* 650: 265-274.
- FAO. 2012. La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2012. Rome. 241p.
- FENTON, R., J. A. MATHIAS, G. E. E. MOODIE. 1996. Recent and future demand for walleye in North America. *Fisheries* 21: 6-12.
- FINN, R.N., H.J. FYHN, R.J. HENDERSON, M.S. EVJENS. 1996. The sequence of catabolic substrate oxidation and enthalpy balance of developing embryos and yolk-sac larvae of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology* 115A: 133-155.
- FINSTAD, B., K. J. NILSSEN, A. M. ARNESEN. 1989. Seasonal changes in sea-water tolerance of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Journal of Comparative Physiology, Part B* 159: 371-378.
- FOLCH, J., M. LEES, S.G.H. STANLEY. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry* 226: 497-509.
- FOX, B. K., J. P. BREVES, T. HIRANO, E. G. GRAU. 2009. Effects of short- and long-term fasting on plasma and stomach ghrelin, and the growth hormone/insulin-like growth factor I axis in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Domestic Animal Endocrinology* 37: 1-11.

- FRØILAND, E., K. MURASHITA, E. H. JØRGENSEN, T. KUROKAWA. 2010. Leptin and ghrelin in anadromous Arctic charr: cloning and change in expressions during a seasonal feeding cycle. *General and Comparative Endocrinology* 165: 136-143.
- FRYER, J.L., R.P. HEDRICK. 2003. *Piscirickettsia salmonis*: a Gram-negative intracellular bacterial pathogen of fish. *Journal of Fish Diseases* 26: 251-262.
- GANGA, R., J.G. BELL, D. MONTERO, L. ROBAINA, M. J. CABALLERO, M. S. IZQUIERDO. 2005. Effect of dietary lipids on plasma fatty acid profiles and prostaglandin and leptin production in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 142: 410-418.
- GJEDREM, T. 1975. Survival of Arctic charr in the sea during fall and winter. *Aquaculture* 6: 189-190.
- GLOVER, K.A., H. OTTERÅ, R.E. OLSEN, E. SLINDE, G.L. TARANGER, Ø. SKAALA. 2009. A comparison of farmed, wild and hybrid Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared under farming conditions. *Aquaculture* 286: 203-210.
- GORRISSEN, M.H.A.G., G. FLIK, M.O. HUISING. 2006. Peptides and proteins regulating food intake: a comparative view. *Animal Biology* 56: 447-473.
- GRAHAM, J.B. 2006. Aquatic and aerial respiration. In: EVANS, D. H. & J. B. CLAIBORNE (eds). *The Physiology of Fishes* (3rd edn). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA. pp. 85-117.
- GRISDALE-HELLAND, B., S.J. HELLAND. 1997. Replacement of protein by fat and carbohydrate in diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) at the end of the freshwater phase. *Aquaculture* 152: 167-180.
- GUALILLO, O., F. LAGO, J. GOMEZ-TEINO, F.F. CASANUEVA, C. DIEGUEZ. 2003. Ghrelin, a widespread hormone: insights into molecular and cellular regulation of its expression and mechanism of action. *FEBS Letters* 552: 105-109.

- GUNNARSSON, S., A.K. IMSLAND, J. ÁRNASON, A. GÚSTAVSSON, I. ARNARSON, J.K. JÓNSSON, A. FOSS, S. STEFANSSON & H. THORARENSEN. 2011. Effect of rearing temperature on the growth and maturation of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) during juvenile and on-growing periods. *Aquaculture Research* 42: 221-229.
- GURURE, R.M., R.D. MOCCIA, J.L. ATKINSON. 1995. Optimal protein requirements of young Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) fed practical diets. *Aquaculture Nutrition* 1: 227-234.
- GURURE, R., J. ATKINSON, R.D. MOCCIA. 2007. Amino acid composition of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) and the prediction of dietary requirements for essential amino acids. *Aquaculture Nutrition* 13: 266-272.
- HAMZA, N., P. KESTEMONT, I.B. KHEMIS, M. MHETLI, C. CAHU. 2012. Effect of different sources and levels of dietary phospholipids on performances and fatty acid composition of pikeperch (*Sander lucioperca*) larvae. *Aquaculture Nutrition* 18: 249-257.
- HARTMAN, G.F. 2009. A biological synopsis of walleye (*Sander vitreus*). Canadian Manuscript Report of Fisheries and Aquatic Sciences 2888: v + 48 p.
- HARVEY, J. & M.L. ASHFORD. 2003. Leptin in the CNS: much more than a satiety signal. *Neuropharmacology* 44: 845-854.
- HAZEL, J.R. 1984. Effects of temperature on the structure and metabolism of cell membranes in fish. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 246: R460-470.
- HAZEL, J.R. 1995. Thermal adaptation in biological membranes: is homeoviscous adaptation the explanation? *Annual Review of Physiology* 57: 19-42.

- HENDERSON, R.J., J.R. SARGENT, C.E.E. HOPKINS. 1984. Changes in the content and fatty acid composition of lipid in an isolated population of the capelin *Mallotus villosus* during sexual maturation and spawning. *Marine Biology* 78: 255-263.
- HENDERSON, R.J., D.R. TOCHER. 1987. The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Progress in Lipid Research* 26: 281-347.
- HERTRAMPF, J.W., PIEDAD-PASCUAL, F. 2000. Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 573 p.
- HIGGS, D.A., F.M. DONG. 2000. Lipids and fatty acids. In: STICKNEY, R.R. (ed). *Encyclopedia of Aquaculture*. John Wiley & Sons, New York. pp 476-496.
- HILTON, Z., C.W. POORTENAAR, M.A. SEWELL. 2008. Lipid and protein utilisation during early development of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*). *Marine Biology* 154: 855-865.
- HISSA, R., E. HOHTOLA, T. TUOMALA-SARAMÄKI, T. LAINE, H. KALLIO. 1998. Seasonal changes in fatty acids and leptin contents in the plasma of European brown bear (*Ursus arctos arctos*). *Annales Zoologici Fennici* 35: 215-224.
- HOWARD, R., D. STANLEY. 1999. The tie that binds: eicosanoids in invertebrate biology. *Annals of the Entomological Society of America* 92: 880-890.
- HUISING, M. O., E. J. W. GEVEN, C. P. KRUISWIJK, S. B. NABUURS, E. H. STOLTE, F. A. T. SPANINGS, B. M. L. VERBURG-VAN KEMENADE, G. FLIK. 2006. Increased leptin expression in common carp (*Cyprinus carpio*) after food intake but not after fasting or feeding to satiation. *Endocrinology* 147: 5786-5797.
- HULBERT, A.J., P.L. ELSE. 1999. Membranes as possible pacemakers of metabolism. *Journal of Theoretical Biology* 199: 257-274.

- IMSLAND, A.K., A. FOLKVORD, O.D.B. JÓNSDÓTTIR, S.O. STEFANSSON. 1997. Effects of exposure to extended photoperiods during the first winter on long-term growth and age at first maturity in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 159: 125-141.
- INUI, A., A. ASAKAWA, C.Y. BOWERS, G. MANTOVANI, A. LAVIANO, M.M. MEGUID, M. FUJIMIYA. 2004. Ghrelin, appetite, and gastric motility: the emerging role of the stomach as an endocrine organ. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 18: 439-456.
- JAMET, J.-L. 1995. Reproduction, condition and food of adult Arctic charr (*Salvelinus alpinus*, L.) in Lake Pavin (Massif Central, France). *Hydrobiologia* 300/301: 279-288.
- JANHUNEN, M., J. PIIRONEN, N. PEUHKURI. 2010. Parental effects on embryonic viability and growth in Arctic charr *Salvelinus alpinus* at two incubation temperatures. *Journal of Fish Biology* 76: 2558-2570.
- JOBLING, M. 1994. *Fish Bioenergetics*. Chapman & Hall, London, UK. 328 p.
- JOBLING, M. 2004. On-growing to market size. In: MOKSNESS, E., E. KJØRSVIK, Y. OLSEN (eds). *Culture of Cold-water Marine Fish*. Blackwell Science, Oxford, UK. pp. 363-432.
- JOBLING, M. 2010. Farmed species and their characteristics. In: LE FRANÇOIS, N., M. JOBLING, C. CARTER, P. BLIER (eds). *Finfish Aquaculture Diversification*. Osfordshire, UK. pp 88-99.
- JOBLING, M., A. WANDSVIK. 1983. Quantitative protein requirements of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *Journal of Fish Biology* 22: 705-712.

- JOBLING, M., E.H. JØRGENSEN, A.M. ARNESEN, E. RINGØ. 1993. Feeding, growth and environmental requirements of Arctic charr: a review of aquaculture potential. *Aquaculture International* 1: 20-46.
- JOBLING, M., H.K. JOHNSEN, G.W. PETTERSEN, R.J. HENDERSON. 1995. Effect of temperature on reproductive development in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). *Journal of Thermal Biology* 20: 157-165.
- JOBLING, M., H. TVEITEN, B. HATLEN. 1998. Cultivation of Arctic charr: an update. *Aquaculture International* 6: 181-196.
- JOHNSON, L. 1980. The Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. In: BALON, E.K. (ed). *Charrs, Salmonid Fishes of the Genus Salvelinus*. Kluwer Boston, Hingham. 928 p.
- JOHNSON, R.M., T.M. JOHNSON & R.L. LONDRVILLE. 2000. Evidence for leptin expression in fishes. *Journal of experimental zoology* 286: 718-724.
- JOHNSTON, T.A. 1997. Within-population variability in egg characteristics of walleye (*Stizostedion vitreum*) and white sucker (*Catostomus commersoni*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 54: 1006-1014.
- JOHNSTON, G. 2002 Arctic Charr Aquaculture. JOHNSTON, G (ed). Blackwell Science Inc., Malden, USA. 272 p.
- JOHNSTON, T. A., W. C. LEGGETT. 2002. Maternal and environment gradients in the egg size of an iteroparous fish. *Ecology* 83: 1777-1791.
- JOHNSTON, T.A., M.D. WIEGAND, W.C. LEGGETT, R.J. PRONYK, S.D. DYAL, K.E. WATCHORN, S. KOLLAR, J.M. CASSELMAN. 2007. Hatching success of walleye embryos in relation to maternal and ova characteristics. *Ecology of Freshwater Fish* 16: 295-306.

- JÓNSSON, B., E. SVAVARSSON. 2000. Connection between egg size and early mortality in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Aquaculture* 187: 315-317.
- JÖNSSON, E., A. FORSMAN, I. E. EINARSDOTTIR, H. KAIYA, K. RUOHONEN, B. T. BJÖRNSSON. 2007. Plasma ghrelin levels in rainbow trout in response to fasting, feeding and food composition, and effects of ghrelin on voluntary food intake. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 147: 1116-1124.
- JØRGENSEN, E.H., S.J.S. JOHANSEN, M. JOBLING. 1997. Seasonal patterns of growth, lipid deposition and lipid depletion in anadromous Arctic charr. *Journal of Fish Biology* 51: 312-326.
- KAIYA, H., M. KOJIMA, H. HOSODA, S. MORIYAMA, A. TAKAHASHI, H. KAWAUCHI, K. KANGAWA. 2003. Peptide purification, complementary deoxyribonucleic acid (DNA) and genomic DNA cloning, and functional characterization of ghrelin in rainbow trout. *Endocrinology* 144: 5215-5226.
- KAIYA, H., B.C. SMALL, A.L. BILODEAU, B.S. SHEPHERD, M. KOJIMA, H. HOSODA, K. KANGAWA. 2005. Purification, cDNA cloning, and characterization of ghrelin in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *General and Comparative Endocrinology* 143: 201-210.
- KAIYA, H., M. MIYAZATO, K. KANGAWA, R.E. PETER, S. UNNIAPPAN. 2008. Ghrelin: A multifunctional hormone in non-mammalian vertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 149: 109-128.
- KAMLER, E. 1992. Early life history of fish: an energetics approach. In: PITCHER, T.J. (ed). *Fish and fisheries* 4. Chapman & Hall, London. 267 p.
- KAMLER, E. 2002. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 12: 79-103.

- KAMLER, E. 2005. Parent-egg-progeny relationships in teleost fishes: an energetics perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 15: 399-421.
- KAMLER, E. 2008. Resource allocation in yolk-feeding fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 18: 143-200.
- KETOLA, H.G. 1982. Amino acid nutrition of fishes: requirements and supplementation of diets. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73 B: 17-24.
- KJØRSVIK, E., A. MANGOR-JENSEN, I. HOMELFJORD. 1990. Egg quality in fishes. *Advances in Marine Biology* 31: 71-113.
- KLEIN, R.A. 1978. Mass spectrometry, a powerful tool for lipid research. *Chemistry and Physics of Lipids* 21: 291-312.
- KLING, P., I. RØNNESTAD, S.O. STEFANSSON, K. MURASHITA, T. KUROKAWA, B.T. BJÖRNSSON. 2009. A homologous salmonid leptin radioimmunoassay indicates elevated plasma leptin levels during fasting of rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology* 162: 307-312.
- KOJIMA, M., H. HOSODA, Y. DATE, M. NAKAZATO, H. MATSUO, K. KANGAWA. 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402: 656-660.
- KONO, T., Y. KITAO, K. SONODA, R. NOMOTO, T. MEKATA, M. SAKAI. 2008. Identification and expression analysis of ghrelin gene in common carp *Cyprinus carpio*. *Fisheries Science* 74: 603-612.
- LAHNSTEINER, F. 2005. Carbohydrate metabolism of eggs of the whitefish, *Coregonus* spp. during embryogenesis and its relationship with egg quality. *Comparative biochemistry and physiology part B* 142: 46-55.

- LEE, S.-M., I.G. JEON, J.Y. LEE. 2002. Effects of digestible protein and lipid levels in practical diets on growth, protein utilization and body composition of juvenile rockfish (*Sebastes schlegeli*). *Aquaculture* 211: 227-239.
- LE MENN, F., J. CERDÀ, P.J. BABIN. 2007. Ultrastructural aspects of the ontogeny and differentiation of ray-finned fish ovarian follicles. In: P.J. BABIN, J. CERDÀ & E. LUBZENS (eds). *The fish oocyte: from basic studies to biotechnological applications*. Springer, Dordrecht, NL. pp 1-37.
- LILAND, N.S., G. ROSEN LUND, M.H.G. BERNTSSSEN, T. BRATTELID, L. MADSEN, B.E. TORSTENSEN. 2012. Net production of Atlantic salmon (FIFO, Fish in Fish out < 1) with dietary plant proteins and vegetable oils. *Aquaculture Nutrition*. doi: 10.1111/j.1365-2095.2012.00958.x
- LÓPEZ, L.M., A.L. TORRES, E. DURAZO, M. DRAWBRIDGE, D.P. BUREAU. 2006. Effects of lipid on growth and feed utilization of white seabass (*Atractoscion nobilis*) fingerlings. *Aquaculture* 253: 557-563.
- LOVELL, R.T. 1998. *Nutrition and Feeding of Fish* (2nd edn). Kluwer Academic Publishers, Norwell, USA. 260 p.
- LUO, Z., Y. LIU, K. MAI, L. TIAN, D. LIU, X. TAN, H. LIN. 2005. Effect of dietary lipid level on growth performance, feed utilization and body composition of grouper *Epinephelus coioides* juveniles fed isonitrogenous diets in floating netcages. *Aquaculture International* 13: 257-269.
- MAFFEI, M., J. HALAAS, E. RAVUSSIN, R.E. PRATLEY, G.H. LEE, Y. ZANG, H. FEI, S. KIM, R. LALLONE, S. RANGANATHAN, P.A. KERN, J.M. FRIEDMAN. 1995. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Medicine* 1: 1155-1161.

- MANSOUR, N., F. LAHNSTEINER, M.A. MCNIVEN, G.F. RICHARDSON, C.S. PELLETIER. 2011. Relationship between fertility and fatty acid profile of sperm and eggs in Arctic char, *Salvelinus alpinus*. *Aquaculture* 318: 371-378.
- MAPAQ. 2012. Aquaculture. En ligne. <http://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Pêche/aquaculture/> consulté en juin 2012.
- MARTY, Y., F. DELAUNAY, J. MOAL, J.-F. SAMAIN. 1992. Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) during larval development. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 163: 221-234.
- MATHES, M.T., S.G. HINCH, S.J. COOKE, G.T. CROSSIN, D.A. PATTERSON, A.G. LOTTO, A.P. FARRELL. 2010. Effect of water temperature, timing, physiological condition, and lake thermal refugia on migrating adult Weaver Creek sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 67: 70-84.
- MAUK, R.J., M.L. BROWN. 2001. Performance of walleye progeny from Missouri River tributaries in South Dakota. *North American Journal of Aquaculture* 63: 167-170.
- MCCRIMMON, H.R. 1984. An overview of aquaculture in Central Canada. In: *Proceedings of the national aquaculture conference. Strategies for aquaculture development in Canada*, St. Andrews, New Brunswick, July 10-14 1983. Pritchard, G.I. (ed). Department of Fisheries and Oceans. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences 75: 42-55.
- MCMAHON, T.E., J.W. TERELL, P.C. NELSON. 1984. Habitat suitability information: walleye. Western energy and land use team, division of biological services, Research and Development, U.S. Fish and Wildlife Service, Washington. 43 p.
- MELLINGER, J. 2002. Sexualité et reproduction des poissons. MELLINGER, J. (ed). Paris, CNRS Editions. 349 p.

- MILES, R.D., F.A. CHAPMAN. 2008. The concept of ideal protein in formulation of aquaculture feeds. Department of Fisheries and Aquatic Sciences, University of Florida, USA. En ligne. <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FA/FA14400.pdf> consulté en novembre 2012.
- MILLIKIN, M.R. 1983. Interactive effects of dietary protein and lipid on growth and protein utilization of age-0 striped bass. *Transaction of the American Fisheries Society* 112: 185-193.
- MIURA, T., K. MARUYAMA, S.-I. SHIMAKURA, H. KAIYA, M. UCHIYAMA, K. KANGAWA, S. SHIODA, K. MATSUDA. 2007. Regulation of food intake in the goldfish by interaction between ghrelin and orexin. *Peptides* 28: 1207-1213.
- MOMMSEN, T.P., P.J. WALSH. 1988. Vitellogenesis and oocyte assembly. *Fish Physiology* 11: 347-406.
- MOODIE, G.E.E., N.L. LOADMAN, M.D. WIEGAND, J.A. MATHIAS. 1989. Influence of egg characteristics on survival, growth and feeding in larval wallaye (*Stizostedion vitreum*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 46: 516-521.
- MOYLE, P.B., J.J. CECH. 2004. *Fishes: An Introduction to Ichthyology*. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, USA. 726 p.
- MPO. 2012. Aquaculture. En ligne. <http://www.dfo-mpo.gc.ca/aquaculture/aquaculture-fra.htm> consulté en juin 2012.
- MURASHITA, K., S. UJI, T. YAMAMOTO, I. RØNNESTAD, T. KUROKAWA. 2008. Production of recombinant leptin and its effects of food intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 150: 377-381.
- MURASHITA, K., T. KUROKAWA, T.O. NILSEN, I. RØNNESTAD. 2009. Ghrelin, cholecystokinin, and peptide YY in Atlantic salmon (*Salmo salar*): molecular

- cloning and tissue expression. *General and Comparative Endocrinology* 160: 223-235.
- MURASHITA, K., A. - E.O. JORDAL, T.O. NILSEN, S.O. STEFANSSON, T. KUROKAWA, B.T. BJÖRNSSON, A.-G. G. MOEN, I. RØNNESTAD. 2011. Leptin reduces Atlantic salmon growth through the central pro-opiomelanocortin pathway. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 158: 79-86.
- MUSTONEN, A.-M., P. NIEMINEN, H.H. HYVÄRINEN. 2002. Leptin, ghrelin, and energy metabolism of the spawning burbot (*Lota lota*, L.). *Journal of Experimental Zoology* 293: 119-126.
- NAYLOR, R.L., R.J. GOLDBURG, J.H. PRIMAVERA, N. KAUTSKY, M.C.M. BEVERIDGE, J. CLAY, C. FOLKE, J. LUBCHENCO, H. MOONEY, M. TROELL. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature* 405: 1017-1024.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). 1993. *Nutrient Requirements Fishes*. National Academic Press, Washington, DC. 114 p.
- NIEMINEN, P., A.M. MUSTONEN, J. ASIKAINEN, H. HYVÄRINEN. 2002. Seasonal weight regulation of the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*): Interactions between melatonin, leptin, ghrelin, and growth hormone. *Journal of Biological Rhythms* 17: 155-163.
- NIEMINEN, P., A.M. MUSTONEN, H. HYVÄRINEN. 2003. Fasting reduces plasma leptin- and ghrelin-immunoreactive peptide concentrations of the burbot (*Lota lota*) at 2 C but not at 10 C. *Zoological Science* 20: 1109-1115.
- OLSEN, R.E., R.J. HENDERSON, E. RINGØ. 1991. Lipids of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) I. Dietary induced changes in lipid class and fatty acid composition. *Fish Physiology and Biochemistry* 9: 151-164.

- OLSEN, R.E., R.J. HENDERSON. 1997. Muscle fatty acid composition and oxidative stress indices of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.), in relation to dietary polyunsaturated fatty acid levels and temperature. *Aquaculture Nutrition* 3: 227-238.
- OLSEN, R.E. , R.J. HENDERSON, J. SOUNTAMA, G.-I. HEMRE, E. RINGØ, W. MELLE, D.R. TOCHER. 2004. Atlantic salmon, *Salmo salar*, utilizes wax ester-rich oil from *Calanus finmarchicus* effectively. *Aquaculture* 240: 433-449.
- OPPEDAL, F., G.L. TARANGER, J.-E. JUELL, T. HANSEN. 1999. Growth, osmoregulation and sexual maturation of 1181 underyearling Atlantic salmon smolt *Salmo salar* L. exposed to different intensities of continuous light in sea 1182 cages. *Aquaculture Research* 30: 491-499.
- PAGE, F., S. ROBINSON. 1992. Salmon farming in the Bay of Fundy, a chilling reminder! *World Aquaculture* 23: 31-34.
- PALMER, T.N., B.E. RYMAN. 1972. Studies on oral glucose intolerance in fish. *Journal of Fish Biology* 4: 311-319.
- PANKHURST, N.W., P.M. THOMAS. 1998. Maintenance at elevated temperature delays the steroidogenic and ovulatory responsiveness of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to luteinizing hormone releasing hormone analogue. *Aquaculture* 166: 163-177.
- PANKHURST, N.W., H.R. KING, S.L. LUDKE. 2008. Relationship between stress, feeding and plasma ghrelin levels in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology* 41: 53-64.
- PANKHURST, N.W., H.R. KING. 2010. Temperature and salmonid reproduction: implications for aquaculture. *Journal of Fish Biology* 76: 69-85.

- PARRISH, C.C. 1987. Separation of aquatic lipid classes by chromarod thin-layer chromatography with measurement by iatroscan flame ionization detection. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 44: 722-731.
- PARRISH, C.C. 1999. Determination of total lipid, lipid classes, and fatty acids in aquatic samples. In M. T. Arts and B. C. Wainman (eds). *Lipids in freshwater ecosystems*. Springer-Verlag, New York, USA. pp 4-20.
- PERRY, G.M.L., C. AUDET, B. LAPLATTE, L. BERNATCHEZ. 2004. Shifting pattern in genetic control at the embryo-alevin boundary in brook charr. *Evolution* 58: 2002-2012.
- PERRY, G.M.L., C. AUDET, L. BERNATCHEZ. 2005. Maternal genetic effects on adaptive divergence between anadromous and resident brook charr during early life history. *Journal of Evolutionary Biology* 18: 1348-1361.
- PETIT, G., M. BEAUCHAUD, J. ATTIA, B. BUISSON. 2003. Food intake and growth of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) held under alternated light/dark cycle (12L:12D) or exposed to continuous light. *Aquaculture* 228: 397-401.
- PETTERSSON, A., J. PICKOVA, E. BRÄNNÄS. 2009. Effects of crude rapeseed oil on lipid composition in Arctic charr *Salvelinus alpinus*. *Journal of Fish Biology* 75: 1446-1458.
- PEYON, P., S. ZANUY & M. CARRILLO. 2001. Action of leptin on in vitro luteinizing hormone release in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Biology of Reproduction* 65: 1573-1578.
- PICKOVA, J., P.C. DUTTA, P.-O. LARSSON, A. KIESSLING. 1997. Early embryonic cleavage pattern, hatching success, and egg-lipid fatty acid composition: comparison between two cod (*Gadus morhua*) stocks. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 2410-2416.

- PICKOVA, J., E. BRÄNNÄS. 2006. Egg quality in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). Archiv Tierzucht, Dummerstorf 49 Special issue: 86-89.
- PICKOVA, J., E. BRÄNNÄS, T. ANDERSSON. 2007. Importance of fatty acids in broodstock diets with emphasis on Arctic char (*Salvelinus alpinus*) eggs. Aquaculture International 15: 305-311.
- PLANTE, S., F. PERNET, R. HACHÉ, R. RITCHIE, B. JI, D. MCINTOSH. 2007. Ontogenetic variations in lipid class and fatty acid composition of haddock larvae *Melanogrammus aeglefinus* in relation to changes in diet and microbial environment. Aquaculture 263: 107-121.
- PODOLSKY, R.D., A.L. MORAN. 2006. Integrating function across marine life cycles. Integrative and Comparative Biology 46: 577-586.
- POHLENZ, C., A. BUENTELLO, S.J. HELLAND, D.M. GATLIN III. 2012. Effects of dietary arginine supplementation on growth, protein optimization and innate immune response of channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque 1818). Aquaculture Research. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2012.03252.x
- POURHOSEIN SARAMEH, S., B. FALAHATKAR, G.A. TAKAMI, I. EFATPANAHI. 2012. Effects of different photoperiods and handling stress on spawning and reproductive performance of pikeperch *Sander lucioperca*. Animal Reproduction Science 132: 213-222.
- POWER, J.H., P.J. WALSH. 1992. Metabolic scaling, buoyancy, and growth in larval Atlantic menhaden, *Brevoortia tyrannus*. Marine biology 112: 17-22.
- QUINN, G.P., M.J. KEOUGH. 2005. Experimental Design and Data Analysis for Biologists (4th edn.). Cambridge University Press. Cambridge, U.K. 556p.

- RATHORE R.M., B. LIASET, E.M. HEVRØY, A. EL-MOWAFI, M. ESPE. 2010. Lysine limitation alters the storage pattern of protein, lipid and glycogen in on-growing Atlantic salmon. *Aquaculture Research* 41: 751-759.
- REINITZ, G. 1983. Relative effect of age, diet, and feeding rate on the body composition of young rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture* 35: 19-27.
- REYNOLDS, J.B. 1994. Northern chars: Scientific challenges and management opportunities. *Transactions of the American Fisheries Society* 123: 368-369.
- RIEGER, P.W., R.C. SUMMERFELT. 1997. The influence of turbidity on larval walleye, *Stizostedion vitreum*, behavior and development in tank culture. *Aquaculture* 159: 19-32.
- RILEY, L.G., B.K. FOX, H. KAIYA, T. HIRANO, E.G. GRAU. 2005. Long-term treatment of ghrelin stimulates feeding, fat deposition, and alters the GH/IGF-I axis in tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *General and Comparative Endocrinology* 142: 234-240.
- ROBBINS, N.J., B. MEANEY, R. HAEDRICH, S. GODDARD, V. PEPPER, T. MCKEEVER. 1990. Arctic charr culture technology in northern Europe: an opportunity for technology transfer to Newfoundland. Newfoundland Department Fisheries Industry Support Services Report 44.
- ROCHE-MAYZAUD, O., P. MAYZAUD, C. AUDET. 1998. Changes in lipid classes and trypsin activity during the early development of brook charr, *Salvelinus fontinalis* (Mitchill), fry. *Aquaculture Research* 29: 137-152.
- ROMBOUGH, P.J. 1994. Energy partitioning during fish development: additive or compensatory allocation of energy to support growth? *Functional Ecology* 8: 178-186.

- RØNNESTAD, I, H.J. FYHN, K. GRAVNINGEN. 1992. The importance of free amino acids to the energy metabolism of eggs and larvae of turbot (*Scophthalmus maximus*). Marine Biology 114: 517-525.
- RØNNESTAD, I, H.J. FYHN. 1993. Ammonia excretion and oxygen uptake related to catabolism of free amino acids in larvae of three flatfishes [Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), turbot (*Scophthalmus maximus*) and lemon sole (*Microstomus kitt*)]. In: WALTHER, B. T. & FYHN, H. J. (eds.) Physiological and Biochemical Aspects of Fish Development. University of Bergen, Bergen, Norway. 355 p.
- ROSENLUND, G., A. OBACH, M.G. SANDBERG, H. STANDAL, K. TVEIT. 2001. Effect of alternative lipid sources on long-term growth performance and quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture Research 32 (sup 1): 323-328.
- RYÖKKYNNEN, A., A.-M. MUSTONEN, T. PYYKÖNEN, S. HÄNNINEN, J. ASIKAINEN, J.V.K. KUKKONEN, J. MONONEN, P. NIEMINEN. 2003. Detection, analysis and interactions of plasma ghrelin, leptin and growth hormone in the mink (*Mustela vison*). Zoological Science 20: 1127-1132.
- SAKSIDA, S.M., L. GREBA, D. MORRISON, C.W. REVIE. 2011. Sea lice on wild juvenile Pacific salmon and farmed Atlantic salmon in the northernmost salmon farming region of British Columbia. Aquaculture 320: 193-198.
- SALZE, G., D.R. TOCHER, W.J. ROY, D.A. ROBERTSON. 2005. Egg quality determinants in cod (*Gadus morhua* L.): egg performance and lipids in eggs from farmed and wild broodstock. Aquaculture Research 36: 1488-1499.
- SARGENT, J.R. 1995. Origins and functions of lipids in fish eggs: nutritional implications. In: Broodstock Management and Egg and Larval Quality. BROMAGE, N.R. & R.R. ROBERTS (eds). Blackwell Science, Oxford, UK. 432 p.

- SARGENT, J., L. MCEVOY, A. ESTEVEZ, G. BELL, M. BELL, J. HENDERSON, D. TOCHER. 1999. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions. *Aquaculture* 179: 217-229.
- SARGENT, J.R., D.R. TOCHER, J.G. BELL. 2002. The lipids. In: HALVER, J.E. & R.W. HARDY (eds.). *Fish Nutrition* (3rd edn). Academic Press, San Diego, USA. pp. 181-257.
- SCHWALME, K., W.C. MACKAY, M.T. CLANDININ. 1993. Seasonal dynamics of fatty acid composition in female northern pike (*Esox lucius* L.). *Journal of Comparative Physiology Part B* 163: 277-287.
- SCOTT, W.B., E.J. CROSSMAN. 1974. *Poissons d'eau douce du Canada*. Fisheries research board of Canada 184: 1026 p.
- SCOTT, W.B., M.G. SCOTT. 1988. Atlantic fishes of Canada. *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences* 219: 137-141.
- SHEARER, K.D., P. SWANSON. 2000. The effect of whole body lipid on early maturation of 1+ age male chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquaculture* 190: 343-367.
- SHEPHERD, B.S., J.K. JOHNSON, J.T. SILVERSTEIN, I.S. PARHAR, M.M. VIJAYAN, A. MCGUIRE, G.M. WEBER. 2007. Endocrine and orexigenic actions of growth hormone secretagogues in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 146: 390-399.
- SHIAN, S., S. HUANG. 1990. Influence of varying energy levels with two protein concentrations in diets for hybrid tilapia (*O. niloticus* x *O. aureus*). *Aquaculture* 91: 143-152.
- SHINTANI, M., Y. OGAWA, K. EBIHARA, M. AIZAWA-ABE, F. MIYANAGA, K. TAKAYA, T. HAYASHI, G. INOUE, K. HOSODA, M. KOJIMA, K.

- KANGAWA, K. NAKAO. 2001. Ghrelin, an endogenous growth hormone secretagogue, is a novel orexigenic peptide that antagonizes leptin action through the activation of hypothalamic neuropeptide Y/Y1 receptor pathway. *Diabetes* 50: 227-232.
- SIKAVUOPIO, S.I., B.-S. SAETHER, S. SKYBAKMOEN, C. UHLIG, E. HAUGLAND. 2009. Effects of a simulated short winter period on growth in wild caught Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) held in culture. *Aquaculture* 287: 431-434.
- SIKAVUOPIO, S.I., R. KNUDSEN, P.A. AMUNDSEN. 2010. Growth and mortality of Arctic charr and European whitefish reared at low temperatures. *Hydrobiologia* 650: 255-263.
- SIMMONS, L., R.D. MOCCIA. 1997. Dietary methionine requirement of juvenile Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Bulletin of the Aquaculture Association of Canada* 97: 36-38.
- SINENSKY, M. 1974. Homeoviscous adaptation—A homeostatic process that regulates the viscosity of membrane lipids in *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 71: 522-525.
- STICKNEY, R.R. 1991. *Culture of Salmonid Fishes*. CRC Press Inc., Boca Raton, FL. 200 p.
- SUMMERFERLT, R.C. 2005. The culture of walleye. *American Fisheries Society Symposium* 46: 373-412.
- SVEIER, H., A.J. RAAE, E. LIED. 2000. Growth and protein turnover in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.); the effect of dietary protein level and protein particle size. *Aquaculture* 185: 101-120.

- TABACHEK, J.L. 1984. Evaluation of grower diets for intensive culture of two strains of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.). Canadian Technical Reports of Fisheries and Aquatic Sciences N°1281.
- TABACHEK, J.L. 1986. Influence of dietary of protein and lipid levels on growth, body composition and utilization efficiencies of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* L. Journal of Fish Biology 29: 139-151.
- TABACHEK, J.L., B.G.E. DE MARCH. 1991. Research priorities for the culture of Arctic charr (L. *Salvelinus alpinus*) in Atlantic Canada. Canadian Industry Reports of Fisheries and Aquatic Sciences 211.
- TACON, A.G.J., M. METIAN. 2008. Global overview on the use of fish meal and fish oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. Aquaculture 285: 146-158.
- TAKEI, Y., C.A. LORETZ. 2006. Endocrinology. In: EVANS, D.H. & J.B. CLAIBORNE (eds). The Physiology of Fishes (3rd edn). CRC Press, Boca Raton, USA. 601 p.
- TAKEUCHI, J., T. WATANABE, C. OGINO. 1978. Optimum ratio of protein to lipids in diets of rainbow trout. Bulletin of the Japanese Society for the Science of Fish 44: 683-688.
- TAYLOR J.F., B.P. NORTH, M.J.R. PORTER, N.R. BROMAGE, H. MIGAUD. 2006. Photoperiod can be used to enhance growth and improve feeding efficiency in farmed rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture 256: 216-234. 2006.
- TERNER, C. 1979. Metabolism and energy conversion during early development. In: HOAR, W.S., D.J. RANDALL & J.R. BRETT (eds). Fish physiology, vol. 8. Academic Press, NY. pp 261-278.
- TOCHER, D.R., J.G. BELL, P. MACGLAUGHLIN, F. MCGHEE, J.R. DICK. 2001. Hepatocyte fatty acid desaturation and polyunsaturated fatty acid composition of

- liver in salmonids: effects of dietary vegetable oil. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 130: 257-270.
- TOCHER, D.R., J.G. BELL, J.R. DICK, V.O. CRAMPTON. 2003. Effects of dietary vegetable oil on Atlantic salmon hepatocyte fatty acid desaturation and liver fatty acid compositions. *Lipids* 38: 723-732.
- TORSTENSEN, B.E., Ø. LIE, L. FRØYLAND. 2000. Lipid metabolism and tissue composition in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) – Effect of capelin oil, palm oil, and oleic acid-enriched sunflower oil as dietary lipid sources. *Lipids* 35: 653-664.
- TURCHINI, G.M., D.S. FRANCIS, S.S. DE SILVA. 2006. Fatty acid metabolism in the freshwater fish Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) deduced by the whole-body fatty acid balance method. *Comparative Biochemistry and Physiology B* 144: 110–118.
- TURCHINI, G.M., B.E. TORSTENSEN, W.-K. NG. 2009. Fish oil replacement in finfish nutrition. *Reviews in Aquaculture* 1: 10-57.
- TVEITEN, H., H.K. JOHNSEN, M. JOBLING. 1996. Influence of maturity status on the annual cycles of feeding and growth in Arctic charr reared at constant temperature. *Journal of Fish Biology* 48: 910-924.
- TYE, J. 1997. Swimming in uncharted waters. *Aquataalk – Aquaculture News at the University of Guelph* 1. En ligne.
<http://www.aps.uoguelph.ca/aquacentre/files/aquataalk/Aquataalk%203.pdf> consulté à l'hiver 2012.
- UNNIAPPAN, S., R.E. PETER. 2005. Structure, distribution and physiological functions of ghrelin in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 140: 396-408.
- UNNIAPPAN, S., L.F. CANOSA, R.E. PETER. 2004. Orexigenic actions of ghrelin in goldfish: feeding-induced changes in brain and gut mRNA expression and serum

- levels, and responses to central and peripheral injections. *Neuroendocrinology* 79: 100-108.
- UNNIAPPAN, S., X. LIN, L. CERVINI, J. RIVIER, H. KAIYA, K. KANGAWA, R.E. PETER. 2002. Goldfish ghrelin: molecular characterization of the complementary deoxyribonucleic acid, partial gene structure and evidence for its stimulatory role in food intake. *Endocrinology* 143: 4143-4146.
- USHER, M.L., C. TALBOT, F.B. EDDY. 1991. Effects of transfer to seawater on growth and feeding in Atlantic salmon smolts (*Salmo salar* L.). *Aquaculture* 94: 309-326.
- VEGUSDAL, A., H. SUNDVOLD, T. GJØEN & B. RUYTER. 2003. An in vitro method for studying the proliferation and differentiation of Atlantic salmon preadipocytes. *Lipids* 38: 289-296.
- VERGARA, J.M., L. ROBAINÀ, M. IZQUIERDO, M. DE LA HIGUERA. 1996. Protein sparing effect of lipids in diets for fingerlings of gilthead sea bream. *Fisheries Science* 62: 624-628.
- VETTER, R.D., R.E. HODSON, C. HARNOLD. 1983. Energy metabolism in a rapidly developing marine fish egg, the red drum (*Sciaenops ocellata*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 40: 627-634.
- VALDIMARSSON, S.K., S. SKÚLASON, S. SNORRASON. 2002. The relationship between egg size and the rate of early development in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Environmental Biology of Fishes* 65: 463-468.
- VOLKOFF, H., A.J. EYKELBOSH & R.E. PETER. 2003. Role of leptin in the control of feeding of goldfish *Carassius auratus*: interactions with cholecystokinin, neuropeptide Y and orexin A, and modulation by fasting. *Brain research* 972: 90-109.

- VOLKOFF, H., L.F. CANOSA, S. UNNIAPPAN, J.M. CERDÁ-REVERTER, N.J. BERNIER, S.P. KELLY, R.E. PETER. 2005. Neuropeptides and the control of food intake in fish. *General and Comparative Endocrinology* 142: 3-19.
- VOLKOFF, H., M. XU, E. MACDONALD, L. HOSKINS. 2009. Aspects of the hormonal regulation of appetite in fish with emphasis on goldfish, Atlantic cod and winter flounder: Notes on actions and responses to nutritional, environmental and reproductive changes. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 153: 8-12.
- VOLKOFF, H., L.J. HOSKINS, S.M. TUZIAK. 2010. Influence of intrinsic signals and environmental cues on the endocrine control of feeding in fish: potential application in aquaculture. *General and Comparative Endocrinology* 167: 352-359.
- WALLACE, J.C., D. AASJORD. 1984a. The initial feeding of Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) alevins at different temperatures and under different feeding regimes. *Aquaculture* 38: 19-33.
- WALLACE, J.C., D. AASJORD. 1984b. An investigation of the consequences of egg size for the culture of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Journal of Fish Biology* 24: 427-435.
- WANG, J.-T., Y.-J. LIU, L.-X. TIAN, K.-S. MAI, Z.-Y. DU, Y. WANG, H.-J. YANG. 2005. Effect of dietary lipid level on growth performance, lipid deposition, hepatic lipogenesis in juvenile cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture* 249: 439-447.
- WATANABE, T. 1982. Lipid nutrition in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology* 73B: 3-15.
- WATANABE, T., V. KIRON. 1994. Prospects in larval fish dietetics. *Aquaculture* 124: 223-251.
- WATANABE, T. 2002. Strategies for further development of aquatic feeds. *Fisheries Science* 68: 242-252.

- WEATHERLEY, A.H., H.S. GILL. 1987. The Biology of Fish Growth. Academic Press, London, 443 p.
- WIEGAND, M.D. 1996. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 6: 259-286.
- WIEGAND, M.D., T.A. JOHNSTON, J. MARTIN, W.C. LEGGETT. 2004. Variation in neutral and polar lipid compositions of ova in ten reproductively isolated populations of walleye (*Sander vitreus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 61: 110-121.
- WILSON, R.P. 1994. Utilization of dietary carbohydrates by fish. *Aquaculture* 124: 67-80.
- WILSON, R.P. 2002. Amino acids and proteins. In: HALVER, J.E. & R.W. HARDY (Eds). *Fish Nutrition* (3rd edn). Academic Press, San Diego, USA. pp. 143-179.
- WILSON, S.M., J.J. NAGLER. 2006. Age, but not salinity, affects the upper lethal temperature limits for juvenile walleye (*Sander vitreus*). *Aquaculture* 257: 187-193.
- WONG, A.O.L., H. ZHOU, Y. JIANG, W.K.W. KO. 2006. Feedback regulation of growth hormone synthesis and secretion in fish and the emerging concept of intrapituitary feedback loop. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 144: 284-305.
- WOOTTON, R.J. 1998. *Ecology of Teleost Fishes* (2nd edn). Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, The Netherlands, 385 p.
- WYNNE, K., S. STANLEY, B. MCGOWAN & S. BLOOM. 2005. Appetite control. *Journal of endocrinology* 184: 291-318.
- XU, M., H. VOLKOFF. 2009. Molecular characterization of ghrelin and gastrin-releasing peptide in Atlantic cod (*Gadus morhua*): cloning, localization, developmental profile and role in food intake regulation. *General and Comparative Endocrinology* 160: 250-258.

- ZARSKI, D, K. TARGOŃSKA, R. KASZUBOWSKI, P. KESTEMONT, P. FONTAINE, S. KREJSZEFF, K. KUPREN, D. KUCHARCZYK. 2012. Effect of different commercial spawning agents and thermal regime on the effectiveness of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), reproduction under controlled conditions. Aquaculture International. DOI 10.1007/s10499-012-9597-2
- ZHANG, Y., R. PROENCA, M. MAFFEI, M. BARONE, L. LEOPOLD, J.M. FRIEDMAN. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature 372: 425-432.

